АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XIX. ВЫП. 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1950

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А. Ф. Войткевич, Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2, КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА».

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

БАКТЕРИИ, РАЗРУШАЮЩИЕ АЛЮМОСИЛИКАТЫ

(Силикатные бактерии)

В. Г. Александров и *Г. А. Зак*

Алюмосиликаты представляют собой наиболее многочисленную и широко распространенную группу минералов земной коры. Из них в основном состоит минеральная часть почвы. Этим определяется то внимание, которое уделялось вопросу о превращениях этой группы соединений крупнейшими учеными и среди них Дарвином, Вернадским, Вильямсом и другими.

Изучение превращений алюмосиликатов, в частности их разрушения, важно, с одной стороны, для понимания первичного почвообразовательного процесса. С другой стороны, нельзя упускать из виду, что многие из алюмосиликатов, как, например, слюды (мусковит, биотит, лейцит и др.), полевые шпаты (ортоклаз, микроклин и др.), песчаниковый глауконит и т. д., содержат до 13—20% калия. Благодаря широкому распространению таких алюмосиликатов среднее содержание калия в земной коре достигает 2,58%. Что касается почвы, то в метровом слое ее, на площади 1 га запасы калия в виде алюмосиликатов исчисляются огромными величинами порядка 150—350 т. Этим количеством могла бы быть обеспечена потребность культурных растений в калийном питании на тысячи лет. Но калий алюмосиликатов не усваивается непосредственно высшими растениями, и поэтому для получения высоких урожаев калий наряду с азотом и фосфором ежегодно вносится в почву в виде удобрений.

Таким образом, изучение процесса разрушения алюмосиликатов в почве приобретает громадное практическое значение в связи с проблемой применения калийных удобрений.

Первые указания на разрушение алюмосиликатов в почве и возможные его причины можно найти у Дарвина [5]. На биохимический характер этого процесса указывает в своих работах Вернадский [3, 4]; Bassalik [8] еще в 1913 г. выделил из кишечника дождевых червей бактерий, оказавшихся способными разлагать различные алюмосиликаты. Александров [1, 2] в 1939 г. выделил таких бактерий непосредственно из почвы. Сообщение о выделении из почвы бактерий, разлагающих алюмосиликаты, сделано также Новороссовой, Ремезовым и Сушкиной [7]. Таким образом, накопилось уже достаточно доказательств того, что разложение алюмосиликатов в почве является процессом биохимическим и возбудителями его являются почвенные бактерии. Однако до сих пор неизвестно, какие именно виды бактерий обладают способностью разрушать алюмосиликаты, специфична ли эта функция или ею обладают многие из почвенных бактерий. Попытку подойти к выяснению этих вопросов представляет собой настоящая работа.

При выделении из почвы бактерий, разрушающих алюмосиликаты, мы использовали известное из химических исследований явление наличия определенной последовательности в отщеплении отдельных элементов при разложении алюмосиликатов. Так, известно, что первыми в растворе появляются щелочные металлы, в том числе калий, затем отщепляются магний и железо и самыми последними — кремний и алюминий. Бакте-

рии, разлагающие алюмосиликаты, не нуждаются в наличии растворимого калия в питательной среде, и, с другой стороны, появление растворимого калия в среде, содержащей алюмосиликаты, может служить признаком начавшегося их разложения. Элективная среда для выделения интересующих нас бактерий и составлялась таким образом, что необходимый бактериям калий давался в виде нерастворимого алюмосиликата. В качестве последнего употреблялся остаток почвы после кипячения ее в течение получаса в 20% растворе соляной кислоты, при отношении почвы к кислоте 1 : 10. К полученному остатку почвы после отмывки соляной кислоты добавлялся мел в количестве 9% от первоначального веса почвы.

Хорошие результаты были получены на среде следующего состава: сахарозы 0,5%; аммония сернокислого 0,1%; натрия фосфорнокислого двузамещенного 0,2%; магния сернокислого 0,05%; железа хлорного 1 капля 1% раствора; алюмосиликата 0,1%; агар-агара (выщелоченного) 2,0%.

На эту среду («силикатный агар») производился засев почвенной взвеси в разведении 1 : 10 000 и более. Различные типы выросших бактерий отвивались из отдельных колоний в пробирки с такой же средой. Чистота культуры контролировалась под микроскопом и проверялась многократными пересевами.

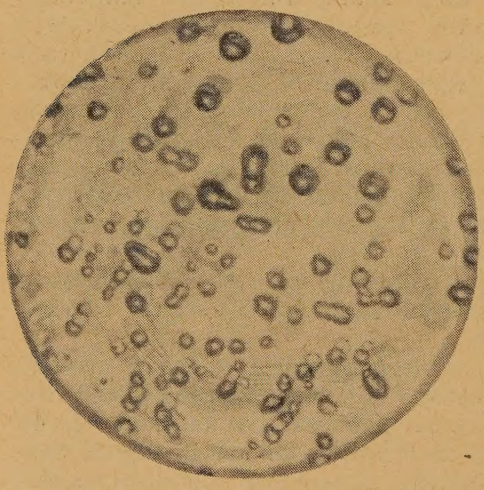


Рис. 1. Колонии на силикатном агаре с азотом

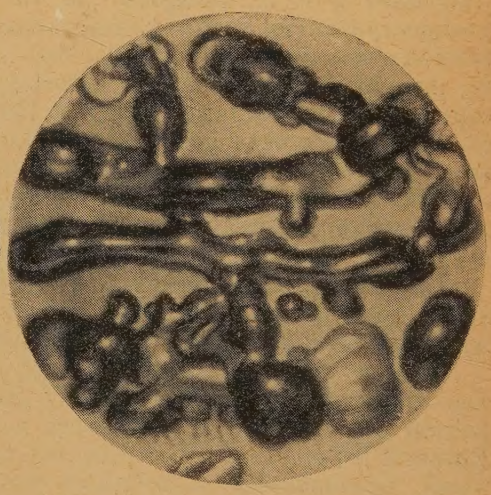


Рис. 2. Колонии на силикатном агаре без азота

Проверка способности выделенных бактерий разрушать алюмосиликаты производилась путем посева их в колбы с 100 мл питательной среды состава: сахарозы 0,075%; аммония сернокислого 0,015%; натрия фосфорнокислого двузамещенного 0,03%; магния сернокислого 0,0075%; железа хлорного — следы; алюмосиликата 0,1%. Через три дня после заражения производилась качественная проба на калий кобальтнитритным реактивом по Пейве. Появление калия в растворе можно было считать признаком начавшегося разложения алюмосиликата и, следовательно, способности бактерий его разрушать.

Такая способность обнаружилась у бактерий, отличавшихся характерной формой слизистых колоний, выделенных из почвенных образцов,

взятых в Андижанском районе Узбекской ССР, а также из черноземов, взятых в окрестностях Куйбышевского сельскохозяйственного института, в Кинеле. Кроме того, в черноземах была обнаружена еще одна бактерия, образовывавшая на питательной среде гладкие (не слизистые) колонии грязнобелого, цвета, также обладающая способностью разлагать алюмосиликаты с освобождением из них большого количества калия. Об активности выделенных бактерий можно судить по результатам количественного определения отщепленного от алюмосиликатов калия, произведенного после пятидневного роста бактерий в чашках Петри с силикатным агаром, приведенным в табл 1.

Таблица 1

Культура	Дано калия в виде алюмосиликата (на 6 чашек Петри) в мг	Обнаружено растворимого калия (на 6 чашек Петри) в мг	Освобождено калия из алюмосиликатов в %
Бактерия № 1 . .	1,95	1,48	75,9
» № 2 . .	1,95	1,32	67,7

После тщательной очистки обеих выделенных бактерий от различных сопутствующих микроорганизмов были изучены их морфологические и физиологические особенности и проведены вегетационные опыты для выяснения возможности обеспечения за счет их деятельности калийного питания высших растений.

Описание свойств выделенных бактерий

А. Бактерия № 1

Способы выделения. Эта бактерия при засеве почвенной взвеси на силикатный агар вырастает в виде характерных слизистых, выпуклых колоний, легко отличимых от всех других форм. Для более легкого выделения ее мы применяли предварительное «оживление» почвы — выдерживание увлажненной почвы в течение трех суток в термостате при 30°. Так же хорошо выделяется эта бактерия на силикатном агаре без азота. В этом случае рост ее колоний протекает еще лучше и она меньше загрязняется различными спутниками. Выделяется эта бактерия также при засеве почвой гелевых пластинок для азотобактера, по Виноградскому, где она образует колонии, имеющие некоторое сходство с колониями азотобактера, но отличающиеся своей прозрачностью и выпуклостью. Бугристый вид ее колоний достаточно характерен. Следует отметить, что при выделении из почвы эту бактерию довольно трудно освободить от развивающейся в ее слизи микобактерии (Mycobacterium diastaticum N. Krasiln.). Контроль чистоты культуры облегчается, однако, тем, что слизь этой бактерии отличается своей упругостью и прочностью. Эти свойства теряются при загрязнении культуры посторонними микроорганизмами.

Морфология бактерий. Бактерии из культуры на силикатном агаре имеют форму палочек с закругленными концами размерами 1,2—1,4 × 4—7 μ. По Граму не красятся. При окрашивании фиксированных спиртом или не фиксированных препаратов фуксином (а также и другими красками) обнаруживаются большие слизистые капсулы,

которыми окружены клетки бактерий. В молодых, суточных, культурах в каждой капсуле может находиться по несколько палочек (2—4), затем каждая палочка выделяет вокруг себя отдельную капсулу, и в трехдневных культурах каждая палочка окружена своей, ясно обособленной капсулой. В более старых, десятидневных, культурах остаются только одни пустые капсулы. Клетки бактерий исчезают, лишь кое-где удается обнаружить отдельные споры, которые на силикатной среде образуются в очень малом количестве. Слизистые капсулы удается рассмотреть под микроскопом и на живых, не окрашенных препаратах-отпечатках или при непосредственном микроскопировании посева на силикатном агаре, или на гелевых пластинках. В водной взвеси капсулы без окраски становятся незаметными. При окрашивании бактерий в водной взвеси фуксином, сафранином или метиленовой синькой можно наблюдать явление свертывания слизистых капсул в бесформенные, густо окрашенные комочки, в которых неразличимыми становятся и самые бактерии. Ход этого процесса ясно виден на прилагаемых микрофотографиях. Такое отношение слизи к указанным краскам является признаком того, что в ней содержится значительное количество кремния, который обнаруживается в ней (так же как и алюминий) и прямыми микрохимическими реакциями.

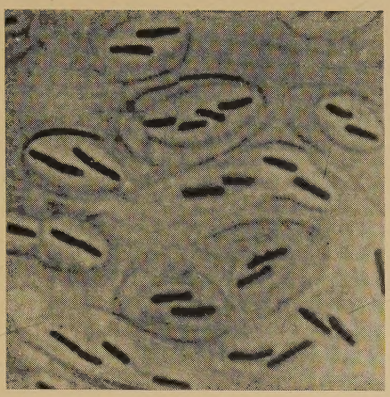
Как сказано, в культурах на силикатных питательных средах споры обнаруживались лишь в очень малых количествах. Это заставляло вначале предполагать, что изучаемая бактерия является бесспоровой, а обнаруживаемые споры — результат случайного загрязнения. Однако принадлежность спор именно изучаемой бактерии стала ясной после сделанных наблюдений за ходом прорастания их, а затем было обнаружено и массовое спорообразование при культивировании бактерии на крахмальном агаре. При спорообразовании палочка утолщается в средней части и образующаяся спора овальной формы имеет размеры 1,5—1,8 × 3,0—3,5 μ. Прорастание спор — полярное.

Культуральные особенности. Наилучший рост изучаемой бактерии мы наблюдали на силикатном агаре без азота. На этой среде бактерии образуют большие слизистые, выпуклые, прозрачные колонии. Они при этом очень сильно распространяются почти по всей поверхности питательной среды, несколько всползая даже на стенки сосуда. На силикатном агаре с азотом вид колоний такой же, только колонии мельче и не распространяются по всей поверхности. Примерно такого же вида колонии образуются и на среде Эшби.

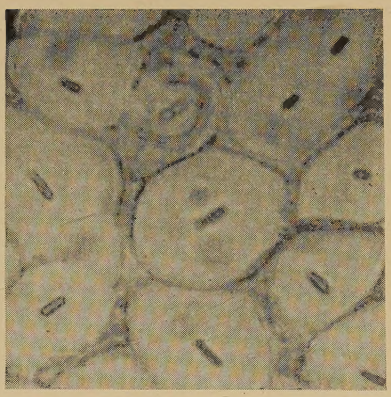
Как указывалось выше, эта бактерия растет и на крахмальном агаре, но на этой среде уже на вторые сутки она приступает к массовому спорообразованию, которого не удается наблюдать на других средах. Вид колоний при этом меняется: в центральной части они мутнеют, прозрачными остаются лишь края колонии, где сосредоточены вегетативные клетки. В помутневшей части колонии меняется и консистенция слизи — теряется характерная для нее упругость и прочность.

Характерной особенностью бактерий является отсутствие роста на белковых средах. Нам ни разу не удалось наблюдать рост ее на МПБ, МПА, МПЖ и в молоке. Не росла она также в наших опытах ни в жидкой, ни в агаризированной среде Чапека. Из жидких сред нам удалось наблюдать рост этой бактерии только в синтетической среде, при добавлении в нее мела и порошка алюмосиликата. В этом случае бактерия развивалась в самом осадке на дне пробирки, причем мел оказывался склеенным слизью в сплошной комок, не взмучивающийся при встряхивании пробирки. Крахмал бактерия гидролизует.

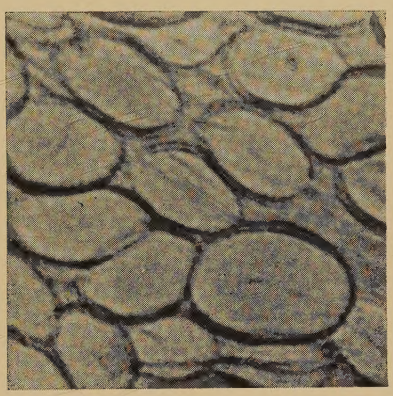
По всем своим признакам, выделенная нами бактерия ближе всего походит на описанную Красильниковым [6] Bacillus mucilaginosus, разновидностью которой, повидимому, и является, отличаясь от нее лишь



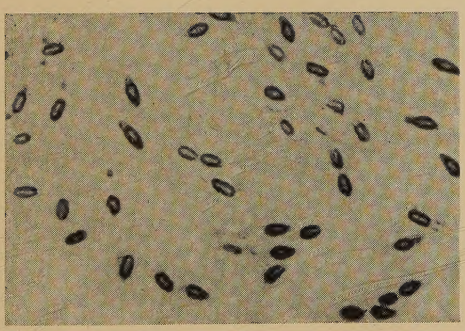
3



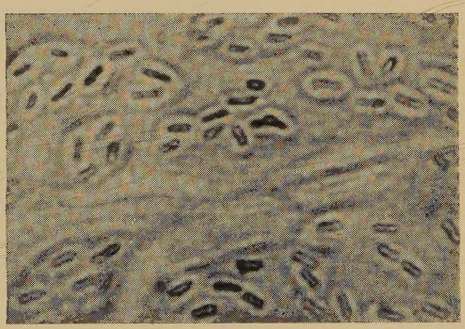
4



5

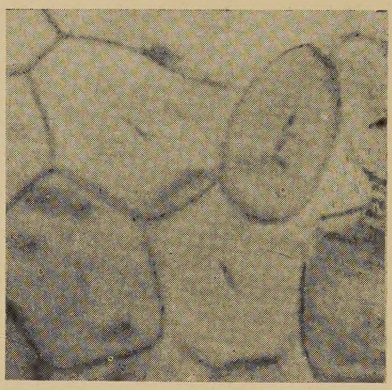


6

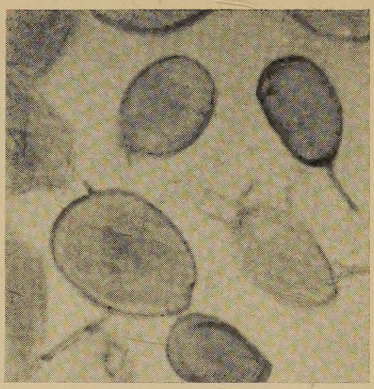


7

Рис. 3. Палочки и слизистые капсулы из суточной культуры на силикатном агаре
Рис. 4. Палочки и слизистые капсулы из трехдневной культуры на силикатном агаре
Рис. 5. Пустые капсулы из десятидневной культуры на силикатном агаре
Рис. 6. Споры из трехдневной культуры на крахмальном агаре
Рис. 7. Прорастающие споры из 13-часовой культуры на силикатном агаре

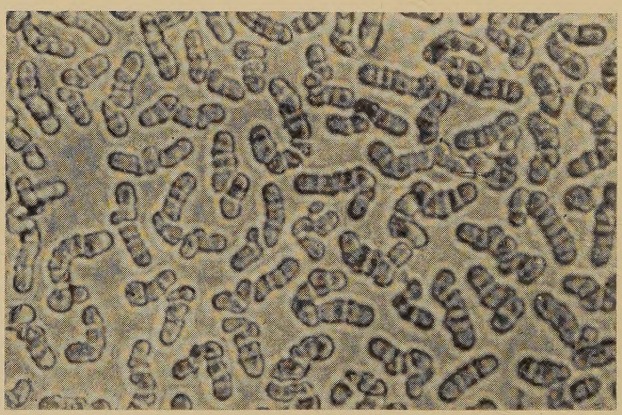


8



9

10



11

Рис. 8 — 10. Разные фазы окрашивания и коагуляции слизистых капсул в водной взвеси под действием сафранина или фуксина (фотографии 3—10 сделаны с препаратов, окрашенных фуксином, при увеличении в 1000 раз)

Рис. 11. Бактерия № 2. Препарат — отпечаток из уточной культуры на силикатном агаре с азотом. Ув. 1000

несколько бо́льшими размерами спор, отсутствием роста на белковых средах и способностью разлагать крахмал.

Приводим краткий диагноз: Bacillus mucilaginosus, subsp. nova: siliceus.

Клетки крупные, 1,0—1,5 μ в поперечнике; длина чаще всего в пределах 3—7 μ; одиночные, в молодых культурах — в парах, иногда (очень редко) в коротких цепочках. Споры овальные 1,5—1,8 μ в диаметре, несколько вздувают оболочку клеток, расположены в центре или сдвинуты к одному из концов клетки; образуются не на всех средах, больше всего на крахмальном агаре. Хорошо растет на безазотистых средах. Растет на средах с минеральным азотом, не растет на белковых средах и на молоке. Крахмал разлагает. Аэроб. Оптимальная температура 25—30°.

Б. Бактерия № 2

Способы выделения. Как сказано выше, эта бактерия выделялась при засеве почвенной взвесью силикатного агара, на котором она образует гладкие колонии грязнобелого цвета. На гелевых пластинках для азотобактера, по Виноградскому, она не выделяется и вообще на средах без азота растет слабо.

Морфология бактерии. Бактерия представляет собой крупную палочку, с характерным зернистым внутренним строением, изменчивую по форме и величине, в зависимости от состава среды. Клетки ее обычно располагаются не очень длинными цепочками. Обладает слабой подвижностью в молодых культурах. На обычных средах клетки ее в поперечнике достигают 2 μ. На силикатном агаре клетки раздуты, достигают 3,5—4 μ в поперечнике, короткие, неправильной формы. Споры овальные или почти шаровидные, около 1,5 μ в диаметре, расположены эксцентрально, часто поперек клетки. По Граму палочки красятся. Слизи не образуют (рис. 11).

Культуральные особенности. В отличие от бактерии № 1 эта бактерия хорошо растет на белковых средах. На МПБ образует слабую пленку и муть, на МПА — гладкие, впоследствии слегка морщинистые колонии грязнобелого цвета, на МПЖ уколом — мешковидное разжижение. Молоко пептонизирует. Хорошо растет, образуя толстые, гладкие колонии на агаризированной среде Чапека. Слабо растет на среде Эшби. На картофеле образует толстые матовые колонии.

Как видно из описания морфологических и культуральных признаков, они аналогичны таковым хорошо известной бактерии Bacillus megatherium De Bary; повидимому, к этому виду и должен быть отнесен описываемый штамм, хотя мы не встречали в литературе какого-либо указания на способность Bacillus megatherium De Bary разрушать алюмосиликаты.

Одним из нас [1] для бактерий, разрушающих алюмосиликаты, ввиду важности этого процесса, было предложено название «силикатные бактерии». Вопрос о необходимости выделения таких бактерий в особую физиологическую группу можно будет решить лишь после детального изучения распространения способности разрушать алюмосиликаты между различными группами микроорганизмов, выяснения химической стороны процесса и его физиологического значения для самих микроорганизмов.

Вегетационные опыты

Для выяснения возможной роли выделенных бактерий в обеспечении калийного питания высших растений и перспектив практического

применения их для повышения урожая культурных растений были проведены вегетационные опыты с пшеницей и кукурузой.

В предварительных опытах, проведенных Александровым [1] в 1940—1941 гг., с выращиванием кукурузы в водных культурах, где калий вносился в виде нерастворимого алюмосиликата, при заражении силикатными бактериями наблюдалось увеличение урожая общей массы на 67% и усвоение растениями зольных элементов на 59,1%.

В 1948 г. проведены вегетационные опыты с пшеницей, сорт Лютесценс 062, и кукурузой, сорт Северо-дакотская белая, в почвенных культурах. Опыты проводились в сосудах размером 20 × 20 см, вмещавших по 5,5 кг почвы. Почва — чернозем обыкновенный с опытного поля Куйбышевского сельскохозяйственного института в Кинеле. Для увеличения урожая и количества усвоенного калия почва во всех сосудах подвергалась частичной стерилизации — прогреванию в автоклаве при 1 атм. в течение 1 часа. С той же целью во все сосуды вносился азот из расчета 0,5 г на сосуд, в виде аммиачной селитры и фосфор из расчета 1 г P_2O_5 на сосуд в виде суперфосфата.

Схема опыта:

1) контроль (без внесения калия и без заражения);
2) внесение калия из расчета 0,2 г K_2O на сосуд;
3) внесение калия из расчета 0,3 г K_2O на сосуд;
4) без внесения калия, заражение семян силикатными бактериями;
5) без внесения калия, заражение почвы силикатными бактериями.

Калий вносился в виде хлористого калия. Заражение семян производилось намачиванием их в водной взвеси бактерий. Заражение почвы — путем внесения взвеси бактерий в проделанные в почве скважины, на глубину 10 см. Опыт ставился только с бактерией № 1. Число растений в сосуде: пшеницы — 13, кукурузы — 3. Повторность опыта — трехкратная. Результаты приведены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Действие силикатных бактерий на урожай яровой пшеницы

Схема опыта	Урожай					
	зерна		соломы		общей массы	
	на сосуд в г	в %	на сосуд в г	в %	на сосуд в г	в %
Контроль	10,0	100	47,2	100	57,2	100
Внесение калия (0,2 г)	16,2	162	52,7	111,7	68,9	120,5
» » (0,3 г)	17,7	177	50,1	106,1	67,8	118,5
Заражение семян	15,6	156	49,0	103,8	64,6	112,9
» почвы	20,5	205	48,8	103,4	69,3	121,1

Таблица 3

Действие силикатных бактерий на урожай кукурузы

Схема опыта	Урожай					
	зерна		соломы		общей массы	
	на сосуд в г	в %	на сосуд в г	в %	на сосуд в г	в %
Контроль	19,3	100	112,1	100	131,4	100
Внесение калия (0,2)	22,9	118,7	134,5	120,0	157,4	119,8
» » (0,3)	29,2	151,3	124,0	110,6	153,2	116,6
Заражение семян	25,9	134,2	125,1	111,6	151,0	114,9
» почвы	28,9	150,2	134,0	120,0	163,4	124,4

Можно отметить, что по действию на урожай заражение силикатными бактериями и на пшенице, и на кукурузе или не уступало внесению калийного удобрения, или даже превосходило его. Интересно при этом, что в опыте с пшеницей действие бактерий сказалось главным образом на урожае зерна, где получен прирост на 56—105%, и почти не сказалось на урожае соломы (прирост — 3,4—3,8%).

Для суждения о влиянии заражения силикатными бактериями на калийное питание растений был произведен химический анализ урожая на содержание калия и определено количество калия, усвоенного растениями. Данные анализов приводятся в табл. 4 и 5.

Таблица 4

Усвоение калия яровой пшеницей

Схема опыта	Усвоено K_2O					Увеличение по сравнению с контролем в мг	Коэффициент использования удобрения в %
	на сосуд в мг			в %			
	в зерне	в соломе	всего	в зерне	в общем урожае		
Контроль	49,6	307,0	356,6	100	100	—	—
Внесение калия (0,2 г) .	81,5	277,7	359,2	164	101	+ 2,6	1,3
Внесение калия (0,3 г) .	81,2	281,3	362,5	164	102	+ 5,9	2,0
Заражение семян . . .	54,6	394,0	448,6	110	126	+92,0	—
Заражение почвы . . .	69,7	351,9	421,6	141	118	+65,0	—

Таблица 5

Усвоение калия кукурузой

Схема опыта	Усвоено K_2O					Увеличение по сравнению с контролем в мг	Коэффициент использования удобрения в %
	на сосуд в мг			в %			
	в зерне	в соломе	всего	в зерне	в общем урожае		
Контроль	97,5	523,0	620,5	100	100	—	—
Внесение калия (0,2 г) .	121,1	576,0	697,1	124	112	+ 76,6	38,4
Внесение калия (0,3 г) .	147,1	670,0	817,5	151	132	+197,0	65,5
Заражение семян . . .	161,4	1346,0	1507,4	166	243	+886,9	—
» почвы . . .	178,8	1852,5	2031,3	183	327	+1410,8	—

В этих таблицах обращает на себя внимание большое (в 5—30 раз) увеличение количества усвоенного калия при заражении силикатными бактериями по сравнению с усвоением его при внесении калийного удобрения. Особенно сильно увеличивается при этом содержание калия в соломе; объяснить это можно тем, что при внесении калийного удобрения калий поглощается растениями только в начальном периоде их развития. В дальнейшем калий в почве связывается почвенными микроорганизмами и становится недоступным для растений. Потребность в калии молодых, вновь нарастающих частей растения — формирующегося колоса, зерна и т. п.— удовлетворяется путем внутреннего перераспределения и перемещения этого элемента. При заражении же силикатными бактериями эти последние, постепенно разрушая почвенные алюмосиликаты, обеспечивают более постоянное, бесперебойное снабжение растения калием, почему и отпадает необходимость в его перемещении из соломы в зерно. В свою очередь сохранение калия в соломе, т. е. в листьях и стеблях растений, не может не отразиться благоприят-

но на физиологических процессах, в особенности на фотосинтезе, с чем, возможно, в значительной степени и связано повышение урожая при заражении силикатными бактериями.

Выводы

1. Путем применения элективной среды — силикатного агара, в которой калий давался в виде нерастворимого алюмосиликата, из почвы выделены бактерии, способные разрушать алюмосиликаты. Эти бактерии могут быть условно объединены в особую группу силикатных бактерий.

2. Способность разрушать алюмосиликаты обнаружена у новой разновидности Bac. mucilaginosus, subsp. siliceus, выделенной из среднеазиатских сероземов и из чернозема Куйбышевской области и у выделенного из чернозема Куйбышевской области штамма Bacillus megatherium De Bary.

3. Силикатные бактерии, расщепляя алюмосиликаты, содержащие калий, могут играть большую роль в мобилизации этого элемента в почве. В связи с этим заражение семян или почвы перед посевом силикатными бактериями приводит к значительному повышению урожая и увеличению количества усвоенного растениями калия.

Куйбышевский сельскохозяйственный институт
Кафедра агрохимии и кафедра физиологии растений

Получено 5. VIII. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В. Г. Силикатные бактерии и их роль в усвоении растениями калия. Тезисы докладов на 5-й научной конференции Куйбышевского с.-х. ин-та 27—30 января 1937 г. Куйбышев, 1947.
2. Александров В. Г. Превращение бактериями почвенного калия из неусвояемой формы в усвояемую. Докл. ВАСХНИЛ, вып. 3, 1949.
3. Вернадский В. И. Очерки геохимии, 1934.
4. Вернадский В. И. Биохимическая роль алюминия и кремния в почвах. ДАН СССР, XXI, № 3, 1938.
5. Дарвин Ч. Образование растительного слоя земли деятельностью дождевых червей и наблюдения над их образом жизни. Соч., т. 2, Биомедгиз, 1936.
6. Красильников Н. А., Определитель бактерий и актиномицетов. Изд. АН СССР, 1949.
7. Новороссова А. Е., Ремезов Н. П. и Сушкина Н. Н. Разрушение алюмосиликатов почвенными бактериями. ДАН СССР, LVIII, № 4, 1947.
8. Bassalik K. Über Silikatersetzung durch Bodenbakterien. Z. Gärungsphysiol. 2, 1, 1912; 3, 15, 1913.

ВЛИЯНИЕ ЛИШАЙНИКОВ НА РАЗВИТИЕ АЗОТОБАКТЕРА

Ю. А. Имшенецкая

При изучении микрофлоры лишайников Красильников [1] установил, что азотобактер в них не развивается. Он обследовал свыше 250 образцов многочисленных видов лишайников, собранных из разных областей Советского Союза и с разных субстратов. Ни в одном из них азотобактера не было.

Искусственное заражение лишайника культурой азотобактера показало, что этот организм быстро погибает в слоевище симбионтов. Опыты проводились в Ереване на лишайниках, разросшихся на каменных глыбах, и под Москвой на лишайниках, выросших на стволах березы, дуба и осины. В том и другом случае для заражения применялись местные формы азотобактера. Лишайники тщательно смачивались густой взвесью азотобактера, затем через определенные промежутки времени производился анализ их. Климатические условия в том и в другом случае благоприятствовали росту азотобактера, температура и влажность были оптимальные. Проведенные анализы показали, что через 20—30 дней внесенный азотобактер полностью исчезал из слоевища лишайников. Совершенно очевидно было, что для обитания данного микроба лишайники непригодны.

Эти наблюдения Красильникова побудили нас заняться выяснением причины быстрой гибели азотобактера в лишайниках. Мы высказали предположение, что в данном случае гибель азотобактера обусловлена антибактериальными веществами, вырабатываемыми симбионтами лишайников.

Имея в своем распоряжении большую коллекцию образцов лишайников (тех самых, с которыми работал Красильников), а также многочисленные штаммы азотобактера, мы провели с ними специальные исследования.

Сначала был взят выделенный сравнительно недавно из почв Ленинаканского района Армении штамм Azotobacter chroococcum № 17. Методика была такова. В чашках Петри со средой Эшби производился сплошной посев азотобактера № 17. Сейчас же после посева на поверхность среды накладывались отрезанные кусочки лишайников. В одних случаях они накладывались целиком, в других предварительно измельчались и смачивались стерильной водой. Для того чтобы дать возможность экстрактивным веществам лишайника диффундировать в среду, прежде чем разовьется азотобактер, чашки выдерживались 36—48 часов при температуре 10—15°. Затем они переносились в термостат с температурой 20—24°. Просмотр чашек производился на 4—5-е сутки после посева. Таким способом было испытано 77 образцов лишайников. Из них 28 образцов лишайников обладали явно антибактериальными свойствами по отношению к азотобактеру. Азотобактер не развивался вокруг комочков таких лишайников. В посевах обнаруживались хорошо очерченные зоны отсутствия роста данного микроорганизма (рис. 1). Как видно из приложенной таблицы (табл. 1), величина зоны различна в зависимости от вида и образца лишайника (рис. 2).

В первой серии опытов мы испытывали чувствительность к лишайникам только одной культуры азотобактера.

Таблица 1

Антагонистическое действие лишайников на культуру Azotobacter chroococcum № 17. Зоны подавления роста выражены в миллиметрах по радиусу

Название лишайников	Величина зоны	Место выделения	Год выделения
Cetraria islandica	2	Ломоносовский р-н., Ленинградск. обл.	1948
Cladonia deformans	1	Там же	1948
» fimbriata	1	Там же	1948
Parmelia physodes	2	Ленингр. обл.	1948
Lecanora allophana	2	Левашево, Ленинградск. обл.	1940
Usnea longissima	1	Остр. Сахалин	1946
Nephroma arcticum	8	Южный Сахалин	1947
Cladonia pyxidata	1	Ломоносовский р-н., Ленинградск. обл.	1948
Acarospora fuscata	5	Армения. Базальтовая роща	1947
» chlorophana	4	Там же	1947
Aspicilia esculenta	2	Армения	1947
Cladonia convoluta	5	»	1947
Fulgensia fulgens	1	Армения, Ереван, Ботанич. сад	1947
Gyrophora polyphyla	2	Армения, гора близ Еревана	1947
Placodium variabile	2	Армения	1947
» elegans	3	»	1947
Aspicilia calcarea	3	Армения, гора близ Еревана	1947
Acarospora chlorophana	2	Там же	1947
Gyrophora rugyfera	2	Армения, Ботанич. сад	1947
Lecanora frustulosa	1	Там же	1947
Placodium elegans	1	Тбилиси, гора Св. Давида	1947
» lentigerum	1	Армения, Ереван, ущелье, Ботанич. сад	1947
Gyrophora vellea	1	Там же	1947
Placodium variabile	2	Армения, Джервешский перевал	1947

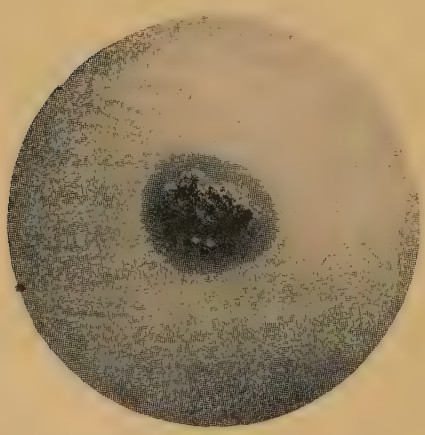


Рис. 1

Рис. 2

Чтобы установить, что данная культура азотобактера не является случайным исключением, мы провели серию опытов с другими видами и штаммами азотобактера, имеющимися в музее Института микробиологии АН СССР.

Были исследованы 15 культур азотобактера тем же методом, что и в первой серии опытов. Каждая культура испытывалась на чувствительность к 4 лишайникам. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Взаимодействие различных видов азотобактера и лишайников

Азотобактер, место его выделения	Размеры зон угнетения роста азотобактера лишайниками в мм			
	Nephroma arcticum	Cetraria islandica	Aspicilia esculenta	Cladonia convoluta
Azotobacter chroococcum				
Az. № 17. Армения	8	2	2	5
Az. № 20. Моск. обл., компостная почва	2	2	1	2
Az. № 14. УзССР, Каунчи	1	—	1	—
Az. № 15. УзССР, Голодная степь, серозем	3	—	1	1
Az. № 10. Армения. Октемберянский р-н	—	—	1	1
Az. № 2. УзССР, Ак-Кавак, серозем	1	—	1	2
Az. № 21. Аскайская степь, чернозем	5	6	3	1
Az. № 9. Армения	7	—	2	3
Azotobacter chroococcum v. nigricans				
Az. № 11. УзССР, Голодная степь, серозем	4	2	—	1
Azotobacter agile				
Az. № 19. Якутия, зона мерзлоты	2	—	—	1
Azotobacter vinelandii				
Az. vinelandii, флюоресц. музейный штамм	1	—	—	1
Az. vinelandii, флюоресц., Армянский ботанич. сад	4	—	—	1
Az. № 18. Москва, супесчаная почва	3	1	—	—
Az. vinelandii коричневый музейный штамм	2	1	—	—
Azotomonas fluorescens				
Azotomonas fluorescens 7a			1	

Из таблицы видно, что штаммы азотобактера избирательно реагируют на антибактериальные вещества разных лишайников. Или вернее, разные лишайники действуют с различной силой на рост различных штаммов азотобактера. Nephroma arcticum, например, подавляет почти все штаммы и виды азотобактера. Исключением является Azotobacter chroococcum шт. 10 и Azotomonas fluorescens. Они оказались не чувствительными к антибактериальному веществу указанного лишайника.

Cetraria islandica угнетает только шесть культур азотобактера, на остальные не оказывает никакого действия.

Такие же различия отмечаются у остальных двух испытанных лишайников.

Эти опыты показывают, что разные культуры азотобактера реагируют на воздействия антибактериальных веществ лишайников в большей или меньшей степени.

Многие лишайники в наших исследованиях не оказали заметного угнетающего действия на развитие азотобактера, т. е. вокруг комочков их не обнаруживались зоны отсутствия роста.

Некоторые образцы лишайников оказывали угнетающее действие на образование пигмента у азотобактера. Последний разрастался вокруг комочков совершенно нормально, но побурение его не наступало.

Полученные данные показывают, что лишайники во многих случаях,

а может быть, во всех, являются антагонистами для азотобактера. Они образуют особые антибактериальные вещества, которые угнетают рост азотобактера. Эти вещества не экстрагируются водой и спиртом, но растворяются в ацетоне. Они хорошо диффундируют в агар, отравляя его вокруг наложенных комочков лишайников.

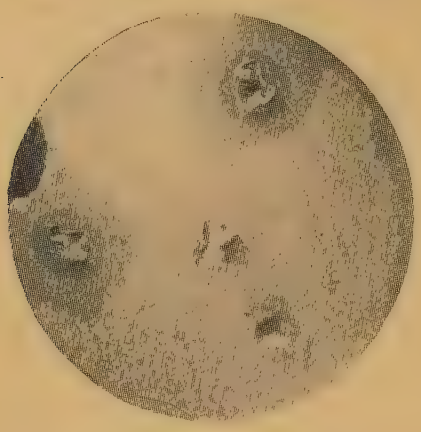


Рис. 3. Azotobacter chroococcum № 17 и лишайник Nephroma arcticum

Следует отметить, что пластинчатые лишайники (Nephroma arcticum) выделяют антибактериальные вещества в агар только нижней стороной своей пластинки. На рис. 3 представлена чашка Петри с четырьмя кусочками одного и того же вида пластинчатого лишайника; из них два верхних кусочка наложены нижней поверхностью пластинки на агар, а два других (нижние) — верхней поверхностью. Первые два дали большие зоны угнетения роста азотобактера (внутренняя зона представляет зону растворения мела в агаре); вокруг нижних кусочков зоны нет или почти нет.

Благодаря антибактериальным веществам лишайники, повидимому, предохраняют себя от нашествия посторонних микроорганизмов и сохраняют чистоту симбионтов в большей или меньшей степени. Этим мы можем объяснить причину быстрой гибели азотобактера в опытах Красильникова.

Выводы

1. Обследовано 77 образцов разных лишайников на способность их к подавлению роста азотобактера.
2. Установлено, что многие виды лишайников обладают резко выраженной антибактериальной способностью. 24 образца лишайников подавляли рост Azotobacter chroococcum № 17.
3. Различные виды азотобактера реагируют на антибактериальное воздействие лишайников в различной степени.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 12. IV. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Существует ли азотобактер в лишайниках? Микробиология, XVIII, 3, 1949.

ВЛИЯНИЕ КОРНЕВЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ ГОРОХА И КУКУРУЗЫ НА РАЗВИТИЕ АЗОТОБАКТЕРА И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ПОЧВЕННЫХ МИКРОБОВ

Н. В. Мешков

За последнее время жизнедеятельность микрофлоры ризосферы растений привлекает особое внимание исследователей. Это объясняется тем, что изучение взаимоотношений растения с микроорганизмами почвы представляет не только теоретический, но и большой практический интерес. В самом деле, эффективность применения минеральных, а тем более бактериальных удобрений и чередование культур в севообороте определяются не только свойством почвы, но и видом растения, в ризосфере которого преимущественно развивается свойственная ему специфическая микрофлора.

В целях практического использования азотфиксирующей деятельности почвенных микроорганизмов особенно усиленно изучалось взаимоотношение между азотобактером и высшими растениями.

Различное влияние высших растений на распространение азотобактера в почве отмечалось в исследованиях многих авторов. По Костычеву [4], табак, кукуруза и хлопчатник способны создавать благоприятные условия для обильного развития азотобактера в их ризосферах.

По данным Красильникова [5], в условиях подзолистой почвы азотобактер развивается в ризосфере корней клевера, люцерны и гороха, не развивается и даже погибает в ризосфере корней пшеницы, кукурузы, льна и хлопчатника.

Исследования Исаковой [1] показывают, что культура горчицы и вики стимулирует рост азотобактера, а лен и конопля угнетают.

Исследования Мешкова [7, 8] в условиях вегетационных опытов с подзолистыми почвами показали, что различные сельскохозяйственные растения по-разному реагируют на внесение под ними культуры азотобактера.

В отборе корневыми системами растений соответствующей микрофлоры, при прочих равных условиях, очевидно большое значение имеют корневые выделения.

Поэтому особый интерес представляет изучение непосредственного влияния корневых выделений на отдельных представителей почвенной микрофлоры. Это достигается выращиванием бактерий в ризосферном растворе совместно с растениями или в отдельно взятом питательном (ризосферном) растворе из-под культур растений.

Красильников [6], культивируя азотобактер в пробирках с ризосферным раствором, взятом из-под стерильных водных культур кукурузы и пшеницы, а также на агаре Эшби с примесью этих растворов, обнаружил отсутствие роста клеток азотобактера. Такое же вредное влияние корневых выделений пшеницы и кукурузы этот автор наблюдал также по отношению к Bac. mycoides и Bac. megatherium.

Опыты Кореняко [3] по изучению влияния корневых выделений различных растений на развитие клубеньковых бактерий при совместном их выращивании в стерильных водных культурах показали, что корневые выделения клевера, гороха и люцерны стимулируют, а кукурузы и льна задерживают развитие клубеньковых бактерий в ризосфере.

Изучение влияния корневых выделений на микроорганизмы почвы, в особенности на азотфиксаторов, в чистом виде (вне почвы) дало бы возможность выяснить значение выделяемых корнями растений органических веществ для этих микробов. Только при изучении в таких условиях представляется возможным устранить влияние различных побочных факторов, всегда имеющихся в почве.

В целях выяснения влияния корневых выделений на развитие отдельных почвенных микроорганизмов в зависимости от вида растений и микроорганизмов мы использовали ризосферный раствор кукурузы и гороха, выращенных в стерильных условиях.

Методика

Для достижения полной стерильности культур в лабораторных условиях опыта мы выращивали растения целиком в замкнутых, лишенных микроорганизмов сосудах.

Сосуды изготовлялись из высоких цилиндрических стеклянных трубок высотой около 50 см и с внутренним диаметром 4 см. На высоте в 15 см от нижнего конца на трубке была сделана перетяжка, сужавшая сосуд до диаметра 3 см и разделявшая его на две неравные по длине части. Нижняя часть сосуда емкостью около 250 мл предназначена для помещения питательного раствора. Верхняя часть высотой около 35 см служила резервуаром для роста надземной массы растения. К боковой стенке сосуда, ниже места перетяжки, приделывался коленчатый тубус изгибом кверху. На тубус надевалась резиновая трубка, снабженная стеклянным наконечником, конец которого закрывался пробиркой с ватной пробкой. Боковой тубус предназначался для стерильного взятия ризосферного раствора из сосуда. Для этой цели сосуд несколько наклонялся на бок и раствор из тубуса стекал в соответствующий приемник.

Верхний открытый конец сосуда закрывался плотной ватной пробкой, через которую пропущены две трубки: одна для ввода семян в сосуд при посеве, а другая — для продувания культуры. В целях предотвращения от микробного заражения при продувании к наружному концу трубки присоединялся ватный фильтр, состоящий из стеклянной трубки (диаметром 1 см и длиной 16—17 см), заполненной рыхлой ватой.

Местом для прорастания стерилизованных семян и дальнейшего роста растения внутри сосуда служила несколько вогнутая стеклянная кольцеобразная решетка, которая помещалась вогнутой стороной кверху над суженной шейкой сосуда для того, чтобы семена не скатывались к его стенкам, а оставались в пределах площади решетки. Решетка изготовлялась из стеклянной палочки путем вращения вокруг ее оси над пламенем горелки и состояла из нескольких витков, между которыми оставался просвет для прохождения корней растения. Кольцеобразная решетка при помощи стеклянной нитки прикреплялась к трубке для продувания, что давало возможность путем перемещения по вертикали трубки для продувания легко регулировать расстояние между семенами и уровнем питательного раствора.

Снаряженные соответствующим образом сосуды, заполненные питательным раствором Гельригеля, стерилизовались в течение одного часа в автоклаве при 120°. Сосуд в собранном виде показан схематически на рис. 1.

Посев производился преимущественно с проращенными (в стерильных пробирках с 2 мл воды) семенами в количестве от 2 до 6 семян на сосуд. Семена предварительно стерилизовались в особом стерилизаторе 1% бромной водой или 12% раствором перекиси водорода. Семена гороха стерилизовались 15 мин., а кукурузы 20—30 мин. Стериль-

ные семена или их проростки опускались через посевную трубку и оставались на кольцеобразной решетке, потому что они по своим размерам значительно крупнее поперечных отверстий между завитками решетки.

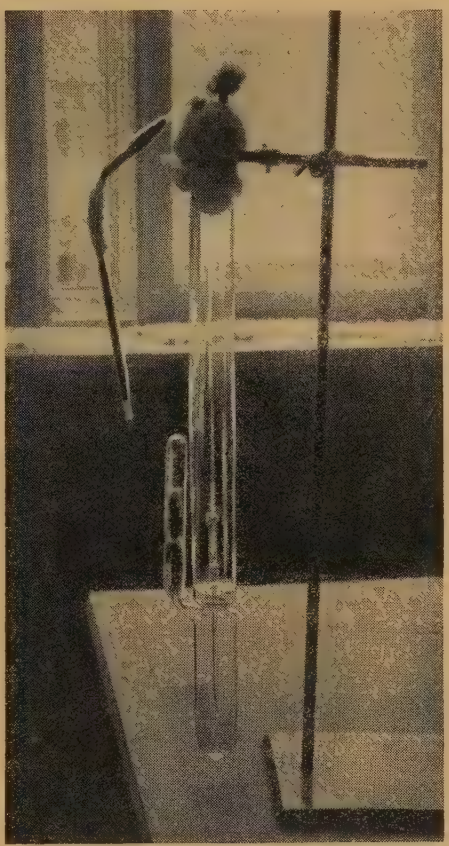


Рис. 1

Перемещая трубку для продувания с привязанной к ней стеклянной решеткой по вертикали, мы обеспечивали требуемый контакт между семенами и питательным раствором.

После погружения корешков растения на некоторую глубину питательного раствора стеклянная решетка до конца опыта оставлялась на 0,5—1,0 см выше уровня водной поверхности питательного раствора с тем, чтобы семена не подвергались гидролитическому действию солей раствора.

Для удобства одновременного ведения опыта со многими сосудами последние своей нижней частью, надетой в матерчатый чехол, становились в 12-гнездовую деревянную подставку (рис. 2).

Сосуды с растениями ежедневно продувались через трубки для продувания при помощи ручного насоса. Для равномерной подачи воздуха между насосом и сосудами помещалась 10-литровая пустая стеклянная бутыль с боковым тубусом у дна. Через систему тройников, соединенных с помощью каучуковых трубок одним концом с насадкой металлической трубки, а двумя концами с ватными фильтрами трубок для продувания, воздух равномерно распределялся по сосудам, расположенным по обеим сторонам подставки.

В смонтированных нами сосудах для стерильных культур в замкнутых условиях растения могли развиваться до двух месяцев, не заражаясь микроорганизмами, если они культивировались из стерильных семян.

Исследования действия корневых выделений различных растений на отдельных представителей почвенных микроорганизмов проводились в стерильных пробирках, содержащих по 10 мл ризосферного раствора.

Для этого ризосферный раствор стерильно сливался из сосуда через боковой его тубус в градуированные на 10 мл стерилизованные пустые пробирки. Ризосферный раствор из сосудов предварительно проверялся на стерильность путем засева в пробирки с МПБ.

Кроме того, в целях проверки стерильности ризосферного раствора пробирки с этим раствором ставились также в термостат сроком на 3—4 дня.

По истечении этого срока пробирки с нестерильным раствором удалялись. Следовательно, для культур бактерий использовались только пробирки со стерильным раствором. Для заражения последних микроорганизмами приготовлялись пробирки с водной суспензией чистых

культур исследуемых бактерий. Одинаковые по объему количества бактериальной суспензии каждого исследуемого вида бактерий вносились в две параллельные пробирки с ризосферным раствором.

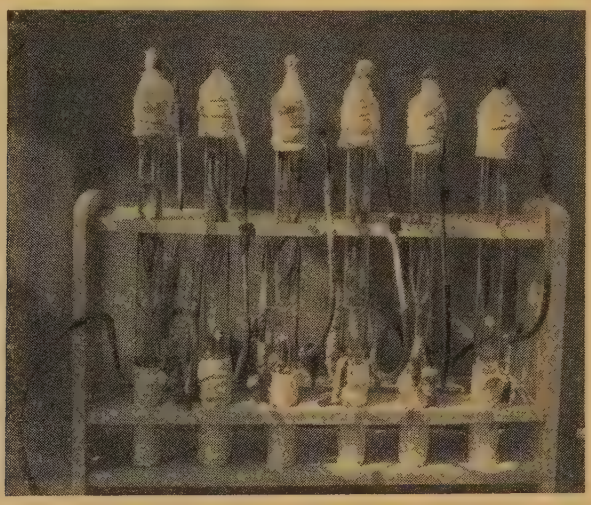


Рис. 2

Исходное число микробных клеток и степень их развития в ризосферном растворе за определенные промежутки времени определялись путем высева содержимого пробирок на плотные агаризованные элективные питательные среды.

Для проведения настоящего опыта было использовано два вида неспороносных бактерий — Azotobacter chroococcum и Pseudomonas и один вид дрожжей — Torula. При этом для Azotobacter и Pseudomonas применялась среда Эшби, а для Torula — пивное сусло.

Результаты исследования

Мы в своих исследованиях не изучали подробно изменения морфологических признаков микробных клеток под действием корневых выделений, а ограничивались только количественным их учетом.

Чтобы искусственно не вызвать ненормальных условий развития микробов вследствие резкого уменьшения запаса органического вещества в ризосферном растворе, мы культивирование микробов прекращали, как только количество их в жидкости стало заметно уменьшаться.

На табл. 1 и 2 представлены результаты количественного учета бактериальных и дрожжевых клеток по числу развивающихся на чашках Петри колоний.

Как видно из табл. 1, в развитии микробов в ризосферном растворе гороха наблюдается одновершинная кривая. Максимум увеличения числа клеток азотобактера приходится на 6-й день после заражения, а у остальных микробов на 19-й день, после чего число их постепенно падает, очевидно, вследствие исчерпания запаса органического вещества в корневых выделениях. При этом наибольшее нарастание числа клеток в культурах выражено у псевдомонаса, затем идут дрожжи и наименьшее — у азотобактера.

В развитии указанных микробов такая же одновершинная кривая наблюдается и в культурах ризосферного раствора кукурузы. Только здесь максимум нарастания числа клеток псевдомонаса и особенно

Таблица 1

Сравнительные данные развития отдельных микробов в ризосферном растворе гороха (в тысячах в 1 мл среды)

Название бактерий	Исходное число бактерий при заражении в тыс.	Изменение числа микробных клеток в ризосферном растворе после заражения					
		на 6-й день		на 19-й день		на 32-й день	
		общее число	отношение к исходному	общее число	отношение к исходному	общее число	отношение к исходному
Azotobacter chroococcum	13,7	256,0	18,6	160,0	11,6	118,0	8,6
Pseudomonas .	118,3	1348,6	11,4	3050,0	26,0	2506,0	21,2
Torula	14,8	130,5	9,0	298,0	20,0	245,0	16,5

Таблица 2

Сравнительные данные развития отдельных микробов в ризосферном растворе кукурузы (в тысячах в 1 мл среды)

Название бактерий	Исходное число бактерий при заражении в тыс.	Изменение числа микробных клеток в ризосферном растворе после заражения					
		на 15-й день		на 20-й день		на 25-й день	
		общее число	отношение к исходному	общее число	отношение к исходному	общее число	отношение к исходному
Azotobacter chroococcum	48,0	52,4	1,3	152,0	3,2	40,0	1,0
Pseudomonas .	240,0	786,4	3,3	3200,0	13,3	1600,0	6,7
Torula	480,0	624,0	1,3	10220,0	21,3	8440,0	7,2

азотобактера значительно ниже, чем в культурах ризосферного раствора гороха (табл. 2).

Неодинаковое влияние ризосферного раствора из-под развивающихся различных сельскохозяйственных растений на отдельные микроорганизмы (в условиях, когда влияние других факторов, изобилующих в почвенных культурах, полностью устранено), в данном случае обусловлено исключительно качественным и количественным составом органических веществ в корневых выделениях. При этом определяющим жизнедеятельность микроорганизмов условием следует считать количество содержащихся в корневых выделениях углеродистой пищи.

По нашим исследованиям, корни гороха выделяли органическое вещество (выраженное в единицах углерода) в значительно большем количестве, чем корни кукурузы.

Для получения корневых выделений с целью определения содержания в них общего углерода мы выращивали растения в условиях стерильных культур на сменявшихся и бессменных питательных растворах Гельригеля.

В этих опытах мы применяли сосуды другой конструкции, в которых у растения корневая система развивалась в стерильных, а вегетативная масса — в обычных условиях [8].

Результаты учета урожаев общей и рабочей поверхностей корней растений, а также данные определения количества углерода в растениях и в корневых выделениях приведены в табл. 3.

Общая и рабочая поверхности корней определялись методом Колосова по поглощению метиленовой синью [2], а общий углерод — сжиганием хромовым ангидридом мокрым методом по Кнопу.

Таблица 3

Содержание общего углерода в корневых выделениях в зависимости от природы растений

Название растения	Вариант опыта	Вес абс. сухой массы общего урожая	Содержание общего углерода в абс. сухой массе растения	Содержание углерода в корневых выделениях		Поверхность корней в м²		Содержание углерода в корневых выделениях в мг в пересчете на м²		Увеличение углерода в сменных растворах по сравнению с бессменными* в %	
				в мг	в % от количества углерода в растениях	общая	рабочая	общая поверхность	рабочая поверхность	в пересчете на 1 г углерода растений	в пересчете на 1 м² рабочей поверхности
Кукуруза	Бессменные растворы	2,658	1,158	17,80	1,50	10,466	2,527	1,84	7,00	100	100
»	Сменные растворы	2,733	1,289	30,79	2,40	12,900	2,00	2,39	15,40	156	220
Горох	Бессменные растворы	0,242	1,108	6,30	5,83	1,789	0,732	3,50	8,60	100	100
»	Сменные растворы	0,277	0,125	19,40	15,50	2,411	1,038	8,05	20,13	266	234

* Количество углерода в бессменных растворах взято за 100 %.

Как видно из табл. 3, корни гороха выделили углеродсодержащих органических соединений значительно больше, чем корни кукурузы. А именно, содержание общего углерода в корневых выделениях в пересчете на единицу веса углерода урожайной массы у гороха оказалось больше, чем у кукурузы в 3,9 раза в бессменных и в 6,5 раза в сменявшихся питательных растворах.

Заметное преимущество наблюдается у гороха и в содержании общего углерода в составе органических корневых выделений и в пересчете на единицу рабочей поверхности корня растений.

Выводы

В течение всего периода исследования число клеток азотобактера в ризосферном растворе гороха было в несколько раз больше, чем в ризосферном растворе кукурузы. Стимулирующее влияние ризосферного раствора гороха на развитие азотобактера по сравнению с ризосферным раствором кукурузы следует объяснить большим содержанием в корневых выделениях гороха органических веществ, являющихся хорошим источником легко доступного для азотобактера углерода.

Развитие других микробов в ризосферном растворе гороха также идет гораздо лучше, чем в ризосферном растворе кукурузы.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 9. III. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Исакова А. К вопросу о взаимоотношениях между высшими растениями и микроорганизмами. Изв. АН СССР, серия биол., № 7, 993, 1934.
2. Колосов И. И. Способ определения поглощающей поверхности корней. Советская агрономия, № 12, 47, 1939.
3. Кореняко А. И. Влияние корневых выделений растений на развитие клубеньковых бактерий. Микробиология, XI, 105, 1942.
4. Костычев С. П. Азотный режим почв южного берега Крыма. Тр. отдела сельскохоз. микробиологии, 1, 15, 1926.
5. Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на микробный состав в почве. Микробиология, XIII, 187, 1944.
6. Красильников Н. А. Влияние корневых выделений на развитие азотобактера и других почвенных микробов. Микробиология, III, 343, 1934.
7. Мешков Н. В. Влияние Azotobacter chroococcum на баланс азота и урожай кукурузы при поливке растений растворами некоторых органических веществ в условиях вегетационных опытов. Изв. АН СССР, серия биол., № 6, 709, 1945. 1945.
8. Мешков Н. В. Влияние азотобактера на урожай сельскохозяйственных культур в связи с корневыми выделениями растений. Советская агрономия, № 3, 85, 1949.

ОБРАЗОВАНИЕ ТРИМЕТИЛЕНГЛИКОЛЯ БРОЖЕНИЕМ ГЛИЦЕРИНА

Л. М. Уткин и *Р. Е. Топштейн*

Образование триметиленгликоля при бактериальном брожении глицерина известно давно [4], но оно всегда рассматривалось как явление отрицательного характера, потому что значительная примесь триметиленгликоля делает глицерин непригодным для производства нитроглицерина.

Образование триме́тиленгликоля при брожении глицерина впервые было подробно исследовано Брааком [2], установившим, что оно вызывается бактериями группы Aerobacter, осуществляющими прямое гидрирование части глицерина в триметиленгликоль за счет водорода, освобождающегося в результате сбраживания другой части глицерина.

С исследованиями Браака мы могли ознакомиться лишь по реферату, и детали работы нам неизвестны, вследствие чего мы не могли ее использовать в достаточной мере при проведении наших опытов.

Изложенные ниже результаты нашего исследования позволяют сделать выводы как практического, так и теоретического характера относительно рассматриваемого вопроса.

Экспериментальная часть

Поскольку можно было считать твердо установленным, что образование триметиленгликоля из глицерина происходит под влиянием бактерий группы Aerobacter, мы начали работу с выделения чистых культур бактерий этой группы из различных источников, главным образом из экскрементов разных животных. Для этого мы использовали метод накопительных культур на среде с цитратом натрия и аммонийными солями в качестве источника азота, так как, по данным Веркмана [6], только эта группа бактерий способна развиваться на такой среде. После трех пассажей на этой среде при 37° мы делали разливку на пептон-глицериновом агаре, причем обычно вырастали колонии одного типа. Из колоний культура переносилась на косой глицериновый агар и в таком виде сохранялась для дальнейшего исследования.

Опыты брожения с учетом образования триметиленгликоля довольно сложны, и переработка сброженной жидкости требовала значительной затраты труда и времени, так как в нашем распоряжении не было простого метода количественного определения триметиленгликоля в присутствии глицерина; Денюэль и Нодэ [3] разработали иодный метод определения триметиленгликоля в глицерине в 1946 г., а наша работа была проведена в 1940—1941 гг.

Поэтому мы, прежде чем ставить такие опыты, подвергали выделенные нами культуры дополнительной проверке на способность сбраживать глицерин с образованием газов, так как, с одной стороны, убедились в том, что не все культуры, прошедшие описанный выше путь, способны были вызывать газообразование в растворах глицерина, хотя развитие и имело место, с другой же стороны, мы наблюдали, что культуры, не образующие газа, не образуют и триметиленгликоля.

Таким способом был проверен ряд выделенных культур и из них отобраны все наиболее активные, с которыми и были проведены дальнейшие опыты. Первое место заняла культура, выделенная из конского навоза и обозначенная Ар 4, другая, менее активная, Ат 1 — была выделена из экскрементов белых мышей. К сожалению, культуры были утрачены во время войны, и мы не успели произвести их определение и идентификацию.

Методика

Опыты мы ставили в склянках, емкостью 2,5 л, в которые наливали 2 л питательной среды; в горло склянки была вставлена пробка значительно меньшего диаметра, обмотанная слоем ваты и снабженная отводной трубкой, заполненной ватой. После стерилизации (30 минут при 1 атм) и засева 100 мл суточной культуры пробку заливали парафином, склянку помещали в термостат при 30°, а трубку соединяли с подводящей трубкой мариоттова сосуда; газ, выделявшийся при брожении, вытеснял воду из мариоттова сосуда, что позволяло, во-первых, учитывать количество газа, во-вторых, следить за интенсивностью процесса брожения.

Мы не принимали особых мер для достижения анаэробных условий, так как уже в начале брожения выделялось много газа (CO_2, H_2), который быстро вытеснял воздух, остававшийся в склянке. Об окончании брожения мы судили по прекращению выделения газа. Сброженные растворы фильтровались, и фильтрат перерабатывался для получения триметиленгликоля. В каждом сброженном растворе (всего было проведено 170 опытов) мы определяли общее количество органических кислот, а также количество летучих кислот и спирта, но не выявили строгой зависимости между выходом триметиленгликоля и количеством перечисленных продуктов брожения, получающихся из глицерина наряду с триметиленгликолем.

В глицерине, служившем исходным материалом для сбраживания, мы определяли содержание чистого глицерина путем окисления перманганатом по методу Ройана и выражали выход триметиленгликоля в процентах к теоретическому выходу из расчета на чистый глицерин.

Триметиленгликоль (1,3-пропиленгликоль, пропандиол-1,3) представляет собой светложелтую жидкость без запаха, сладковатого вкуса, очень похожую на глицерин, но менее вязкую. По литературным данным, т. кип. 210—216,5° (736 мм), уд. вес 1,0526—1,0554 (Тиличеев [1]).

О степени чистоты полученных нами образцов триметиленгликоля мы судили по результатам ацетилирования. Как правило, содержание $C_3H_8O_2$ в наших препаратах лежало в пределах 93—97%, чаще всего оно составляло 95%. Температура кипения наших образцов — 210—214°, уд. вес колебался для разных образцов от 1,053 до 1,055. Бензоилирование в пиридине дало бензоильное производное с т. пл. 59°, что совпадает с т. пл., указанной Тиличеевым для бензоильного производного триметиленгликоля. Содержание бензоильных групп, определенное омылением спиртовой щелочью, составляло 73,4%; вычисленное для $C_{17}H_{16}O_4$ — 73,7%.

Как уже было указано, работа была начата с различными культурами. Значительную часть работы (111 опытов) мы провели с отобранными культурами Ар 4, Ар 5, Ат 1 и Ат 2, но, убедившись в преимуществе культуры Ар 4, мы в заключительной части работы пользовались только ею.

В первых 34 опытах мы применяли среду, предложенную Веркманном [3] и имеющую следующий состав: NH_4Cl — 3 г, KH_2PO_4 — 1 г, глицерин — 20 г, вода до 1 л.

До засева мы прибавляли мел для нейтрализации кислот, образую-

щихся в процессе брожения. Таким путем в бродильном растворе сохраняется до конца брожения pH = 6,4—6,6. Взвесь мела в воде стерилизовали отдельно.

Переработка сброженных растворов

Отфильтровав бродильный раствор и сгустив его в вакууме (при 50° в бане) до $^1/_{10}$ первоначального объема, прибавляли к остатку равный объем горячего насыщенного раствора щавелевокислого натрия, отделяли осадок щавелевокислого кальция фильтрованием и выпаривали фильтрат на водяной бане, прибавляя небольшими порциями 33% раствор едкого натрия до полного удаления аммиака; сгустив раствор до сиропа, растворяли последний в 96% спирте; отфильтровав выпавшие в осадок соли, отгоняли спирт в вакууме на водяной бане; остаток перегоняли на масляной бане и собирали фракцию 110—130° / 12 мм, которую очищали перегонкой при атмосферном давлении (т. кип. 210—214°).

Попытки выделения триметиленгликоля путем высаливания не увенчались успехом. Оказалось, что при высаливании водного раствора триметиленгликоля хлористым натрием с последующим извлечением бутанолом и разгонкой высушенного бутанолового раствора около 80% триметиленгликоля переходит в бутанол. Если отгонять бутанол в присутствии воды, то удается выделить несколько большее количество триметиленгликоля, но потери его все же очень велики (свыше 50%).

Первые опыты были проведены на среде, содержавшей в качестве источника азота один только хлористый аммоний. Эти опыты ставились для проверки активности выделенных культур и в них брожение доходило до конца лишь за 40—50 дней, а выход триметиленгликоля был невелик (до 10%). Если мы прерывали брожение на 12—19-й день, мы всегда имели значительный недоброд и остаток глицерина сильно затруднял выделение триметиленгликоля. После отбора культур Ар 4, Ат 1 и других опыты, засеянные этими культурами, давали выход триметиленгликоля от 6,5 до 12%; процесс брожения длился в этих условиях от 16 до 20 дней (см. таблицу).

При замене хлористого аммония органическим азотом в форме пептона опыты с теми же культурами показали, что триметиленгликоль образуется и в отсутствие хлористого аммония, а срок брожения сокращается в присутствии пептона до 9—13 дней. Выход в этих опытах колебался для разных культур от 6,5 до 10%. При повышении концентрации глицерина до 5% (вместе 2%) выход триметиленгликоля, правда, несколько повышался (до 13%), но при этом всегда имел место значительный недоброд.

Опыты брожения в присутствии хлористого аммония с добавлением дрожжевой воды в количестве 10 мл на 1 л среды показали, что и в этих условиях продолжительность брожения сокращается до 9—12 дней с выходом триметиленгликоля от 13,5 до 22% для разных культур.

Но еще быстрее шло брожение при замене хлористого аммония пептоном с добавлением дрожжевой воды. Продолжительность брожения сокращалась в этих условиях в большинстве случаев до 7 дней. При сбраживании 2% глицерина в присутствии 10 мл дрожжевой воды на 1 л раствора выход триметиленгликоля составлял для разных культур 22—24%, а в присутствии 25 мл дрожжевой воды на 1 л раствора достигал 28%.

Опыты сбраживания 4% и 5% глицерина в присутствии пептона и дрожжевой воды дали выход триметиленгликоля от 11 до 19% для разных культур, но и здесь во всех случаях имел место значительный недоброд, как и в опытах с пептоном без прибавления дрожжевой воды. В опытах с 3% глицерином при различном содержании дрожжевой воды в питательной среде были получены удовлетворительные резуль-

таты (выход от 23 до 28%) только с одной культурой Ар 4; остальные культуры давали в этих условиях значительный недоброд.

Во всех параллельных опытах, поставленных в одинаковых условиях с разными культурами, самый высокий выход неизменно давала культура Ар 4; поэтому мы и остановили свой выбор на этой культуре для постановки ряда опытов с целью изучения влияния различных добавок на ход брожения. Для лучшей ориентировки все эти опыты были проведены с 2% глицерином.

Опыты с разными добавками дали следующие результаты.

1. Сернистокислый кальций. Прибавление $CaSO_3$ с целью связывания уксусного альдегида и предотвращения расхода водорода на восстановление его в спирт или в бутиленгликоль (в опытах с добавкой глюкозы) приводит к резкому замедлению газообразования и не дает хороших результатов.

2. Без дрожжевой воды. Брожение без дрожжевой воды при повышении количества KH_2PO_4 (2,5 г вместо 1 г в 1 л среды) дало за 13 дней крайне низкий выход триметиленгликоля (6,5%) — эти результаты совпадают с теми, какие мы получали в первых опытах без дрожжевой воды при обычном количестве фосфата калия.

3. Увеличение количества дрожжевой воды. Прибавление дрожжевой воды до 50 мл на 1 л среды повышает выход триметиленгликоля в среднем до 33% при продолжительности брожения 6—7 дней. Полная замена пептона дрожжевой водой (500 мл дрожжевой воды в 1 л среды) давала высокие выхода (от 34 до 44%), но в этих опытах небольшое количество глицерина оставалось несброженным.

4. Увеличение количества одноосновного фосфата калия. Высокие и стойкие выхода (33—35%) при продолжительности брожения 6—8 дней дает увеличение количества KH_2PO_4 до 2,5 г в 1 л среды, содержащем 2,5 г пептона и 25 мл дрожжевой воды.

Влияние различных добавок на скорость брожения и выход триметиленгликоля (2% глицерин)

Состав среды (на 1 л)	Культура	Продолжительность брожения в сутках	Выход триметиленгликоля к теоретическому выходу из чистого глицерина в %
1. NH_4Cl — 3 г, KH_2PO_4 — 1 г	До отбора, разные	40—50	ок. 10
2. NH_4Cl — 3 г, KH_2PO_4 — 1 г	Ар4, Ам1	16—20	6,5—12
3. Пептон — 2,5 г, KH_2PO_4 — 1 г	Ар4, Ар5	9—13	6,5—10
4. NH_4Cl — 3 г, дрожжевая вода — 10 мл . . .	Ар4, Ам1	9—12	13,5—22
5. Пептон — 2,5 г, дрожжевая вода — 10 мл, KH_2PO_4 — 1 г	Ар4, Ам1	7	22—24
6. Пептон — 2,5 г, дрожжевая вода — 25 мл, KH_2PO_4 — 1 г	Ар4, Ам1	7	21—25
7. Пептон — 2,5 г, дрожжевая вода — 50 мл, KH_2PO_4 — 1 г	Ар4	6—7	33
8. Пептон — 2,5 г, дрожжевая вода — 25 мл, KH_2PO_4 — 2,5 г	Ар4	6—8	33—35
9. Пептон — 2,5 г, дрожжевая вода — 25 мл, KH_2PO_4 — 5 г $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ — 5 г (без мела)	Ар4	4	38,0

5. Смесь фосфатов (без нейтрализации мелом). Прибавление равных количеств KH_2PO_4 и $Na_2HPO_4 . 2H_2O$ по 5 г на 1 л среды, содержащий 2,5 г пептона и 25 мл дрожжевой воды, сокращает продолжительность брожения до 4 дней и дает выход в среднем 38%.

Причина благоприятного влияния повышенного содержания фосфатов в питательной среде на выход триметиленгликоля и особенно на скорость брожения не совсем ясна; частично эта стимуляция может быть объяснена тем, что среда обычного состава, содержащая избыток мела, постепенно обедняется фосфором по мере образования растворимых кальциевых солей органических кислот и осаждения фосфата кальция.

Сбраживание 3% глицерина в средах, содержавших разные количества дрожжевой воды и повышенные количества фосфата калия или смеси фосфатов, давало пониженные выхода по сравнению со сбраживанием 2% глицерина; кроме того, в этих условиях почти всегда имел место больший или меньший недоброд.

Таким образом, максимальные выхода, достигнутые нами, составляют около 40%. Майкельсон и Веркманн [5], работавшие одновременно с нами, получали на среде, состоявшей из глицерина и минеральных солей, 45% триметиленгликоля, но у них он сопровождается значительной (от 4,4 до 12%) примесью 2,3-бутиленгликоля, которого не содержали наши препараты.

Выводы

Проведенные нами опыты показали, что получение триметиленгликоля брожением глицерина вряд ли может найти практическое осуществление, особенно, если принять во внимание необходимость работать с очень низкими концентрациями — не более 2% глицерина.

Полученные нами выхода — не выше 40% теоретического — позволяют предполагать, что образование этого вещества, действительно идет путем непосредственного гидрирования половины глицерина за счет водорода, образующегося при сбраживании другой его половины.

Интересно, что результаты наших опытов с введением в питательную среду пептона или дрожжевой воды, давшим не только ускорение процесса, но и повышение выхода продукта брожения, не подтверждают мнения Браака, согласно которому пептон и дрожжевая вода как акцепторы водорода должны были бы уменьшать выход триметиленгликоля.

Всесоюзный научно-исследовательский
химико-фармацевтический институт
им. Серго Орджоникидзе
Москва

Получено 25. VI. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Тиличеев М. Д. Разложение кислородных гетероциклов при нагревании, Журн. Русского физ.-хим. об-ва, 58, 458, 1926.
2. Braak H. Диссертация, «Onderzoekingen over Vergisting van Glycerin». Реф. Ber. ges. Physiol., 47, 491, 1928.
3. Desnuelle P. et Naudet M. Determination of trimethyleneglycol a. polyglycerols in the presence of glycerol by periodate oxidation, Реф. Chem. Abstr., 40, 5270, 1946.
4. Freund A. Über die Bildung und Darstellung von Trimethylenalcohol aus Glycerin, Monatshefte Chem., 2, 638, 1881.
5. Mickelson M. a. Werkmann C. Formation of trimethyleneglycol from glycerol by Aerobacter. Enzymologia, 8, 252, 1940.

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОЗЫ НА ПРОЦЕСС ОКИСЛЕНИЯ СОРБИТА УКСУСНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ

З. Г. Разумовская и *О. А. Васильева*

Как показали наши наблюдения, глюкоза, присутствуя наряду с сорбитом в питательной среде, замедляет процесс накопления сорбозы в культуре Acetobacter melanogenum. Для выяснения вопроса, насколько это явление закономерно для культур других уксуснокислых бактерий, мы провели наблюдения за окислением сорбита в присутствии глюкозы с культурами Ac. suboxydans и Ac. aceti.

Опыты ставились в колбах Эрленмейера с дрожжевой водой (0,5% сухого остатка) с добавлением в одних случаях 2% сорбита, в других — 15% сорбита. Глюкоза добавлялась в количестве 2—3%; засев производился двухсуточной культурой. Температура опытов 30°. Сахара определялись методами Бертрана и Вильштеттера.

На рис. 1 представлены данные средних показателей нескольких опытов по накоплению сорбозы и окислению глюкозы Ac. suboxydans, когда эти вещества взяты в отдельности.

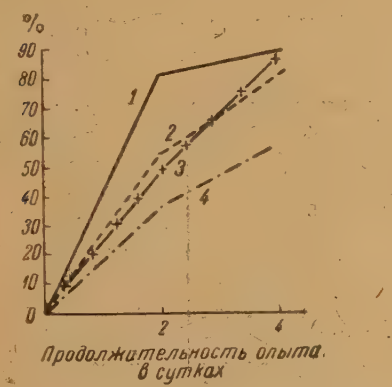


Рис. 1. Окисление сорбита и глюкозы

1— образование сорбозы (2% сорбит); *2*— окисление глюкозы (2% глюкозы); *3*— накопление сорбозы (15% сорбит); *4* — окисление глюкозы (3% глюкозы)

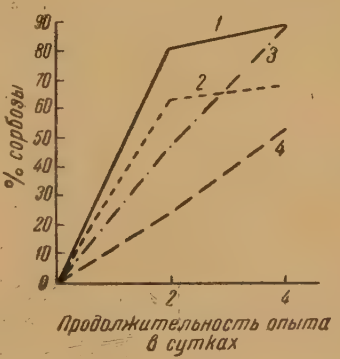


Рис. 2. Образование сорбозы в присутствии глюкозы

1—2% сорбит; *2*—2% сорбит + 2% глюкозы; *3*—15% сорбит; *4*—15% сорбит + 3% глюкозы

Как видно из представленных кривых, на среде с 2% сорбита накопление сорбозы уже на второй день достигает 81,7%, окисление глюкозы той же концентрации в этот период поднимается только до 58,5%. На четвертый день это различие сглаживается. На 15% сорбите кривая окисления поднимается более полого, но на четвертые сутки достигает 87%, тогда как окисление 3% глюкозы в этот период составляет всего 60%. Активность окисления сорбита у Ac. suboxydans так же, как и у Ac. melanogenum, выше, чем способность окисления глюкозы.

Данные окисления сорбита Ac. suboxydans при наличии в среде глюкозы приведены в табл. 1, где указаны средние цифры двух серий опытов.

Таблица 1

Окисление сорбита Ac. suboxydans в присутствии глюкозы

Исходные количества в %		Получено сорбозы			
		2-й день		4-й день	
сорбита	глюкозы	в мг	в %	в мг	в %
2	0	805,7	81,4 } 83,1	882,2	89,2 } 88,4
2	0	839,3	84,8 }	866,6	87,6 }
2	2	623,7	63,0 } 57,0	677,6	68,5 } 68,5
2	2	504,6	51,0 }	—	— }
15	0	3571,4	48,1 } 56,7	6435,7	86,7 } 87,3
15	0	4852,2	65,4 }	6524,9	87,9 }
15	3	1796,2	24,2 } 34,9	3874,2	52,2 } 45,4
15	3	3372,8	45,6 }	2869,5	38,6 }

Как показывают данные, при добавлении к 2% сорбиту 2% глюкозы образование сорбозы снижается на 20%, а при добавлении 3% глюкозы к 15% сорбиту выход сорбозы падает почти в два раза (рис. 2).

В этих опытах был использован технический сорбит, содержавший на 10 г сорбита 0,1 г глюкозы, и мы поставили аналогичные опыты с сорбитом химически чистым, не содержащим и следов глюкозы. Результаты представлены в табл. 2, где приведены средние цифры из двух серий опытов. Количество сорбозы во всех случаях при добавлении глюкозы ниже, чем в контроле, где только один сорбит, что ясно видно из рис. 3. Одновременно с сорбитом идет окисление глюкозы и образуется глюконовая кислота.

Таблица 2

Окисление сорбита Ac. suboxydans в присутствии глюкозы (двухдневная культура)

Исходные количества в %		Получено сорбозы в %	Окислено глюкозы в %
сорбита	глюкозы		
2	0	81,7	—
2	0,5	61,2	57,4
2	1,0	56,9	66,4
2	2,0	44,8	60,5

Таблица 3

Изменение кислотности в культуре Ac. suboxydans на 2-й день

Среда	Титруемая кислотность в мл 0,1 *N* кислоты на 10 мл среды	pH
Сорбит 2% . . .	0,75	4,65
Сорбит 2%, глюкоза 0,5% . . .	2,13	2,85
Сорбит 2%, глюкоза 1% . . .	4,85	2,6
Сорбит 2%, глюкоза 2% . . .	8,75	2,55
Глюкоза 2% . . .	5,5	2,8

Определение кислотности и pH в этих опытах показало, что в присутствии глюкозы повышается титруемая кислотность и снижается pH, как это видно из табл. 3.

Это нарастание кислотности среды несомненно создает неблагоприятные условия для жизнедеятельности бактерий. В новой серии опытов наряду с обычной постановкой опытов в часть опытных колб был внесен $CaCO_3$. Данные одного из этих опытов приведены в табл. 4 и рис. 4.

Таблица 4

Окисление сорбита в присутствии глюкозы и мела

Условия опыта			Получено сорбозы			
			2-й день		4-й день	
Сорбит в %	Глюкоза в %	Мел в мг	в мг	в %	в мг	в %
2	0	0	830, 781 — 805,7	83,9, 79 — 81,4	894,4, 870,0 — 882,2	90,4, 87,9 — 89,2
2	0	0				
2	2	0	676,1, 571,4 — 623,7	68,3, 57,7 — 63	721,0, 634,3 — 677,6	72,9, 64,1 — 68,5
2	2	0				
2	2	300	827,5, 833,2 — 830,3	83,6, 84,2 — 83,9	1158,1, 1033,2 — 1095,6	117, 104 — 110,7
2	2	300				

Как показывают эти данные, выход сорбозы на сорбитной среде с глюкозой при добавлении мела повышается и в случае 2% сорбита с добавлением 2% глюкозы и мела дает показатели выше 100%, т. е. выше возможных теоретически (рис. 4). В опытах большей продолжительности это повышение еще значительнее. Так в опытах на 4-й день получены были цифры «накопления сорбозы»: 102,3%, 108,6%, 110,7%, а в восьмидневных опытах 124%, 131,0%, 115%.

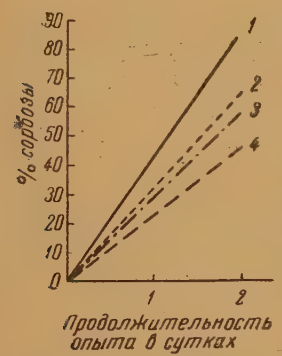


Рис. 3. Образование сорбозы в присутствии глюкозы

1—2% сорбит; *2*—2% сорбит +0,5% глюкозы; *3*—2% сорбит + 1% глюкозы; *4*—2% сорбит +2% глюкозы

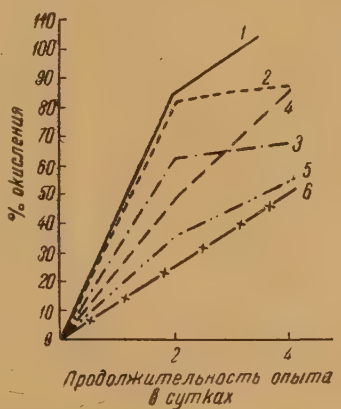


Рис. 4. Образование сорбозы в присутствии глюкозы и мела

1—2% сорбит + 2% глюкозы + $CaCO_3$; *2*—2% сорбит; *3*—2% сорбит + 2% глюкозы; *4* — 15% сорбит; *5*—15% сорбит + 3% глюкозы + $CaCO_3$; *6*—15% сорбит + + 3% глюкозы

Такие цифры, как это указывалось в предыдущей работе, вызываются образованием при этих условиях значительных количеств 5-кетоглюконата, определяющегося по Бертрану так же, как и сорбоза; 5-кетоглюконат легко образуется Ac. suboxydans при наличии в среде мела, что нами и наблюдалось.

Wells, Stubbs, Lockwood и Roe [3], работая с Ac. suboxydans, наблюдали, что добавление глюкозы и мела повышает выход сорбозы; они нашли этот способ перспективным и рекомендуют среду: сорбита 100 г, глюкозы 10 г и $CaCO_3$ 3,1 г.

Prescott и Dunn [4], говоря о процессе окисления сорбита в сорбозу, приводят этот же состав среды. Указанные авторы исходили из данных

определения сорбозы по Бертрану и считали, что глюкоза быстро окисляется в глюконовую кислоту, которая по этому методу не определяется, мел же только нейтрализует эту кислоту. Образование 5-кетоглюконата ими не принималось во внимание. Отсюда вытекают неправильные заключения этих исследователей.

Для того чтобы установить действительный выход сорбозы, мы поставили ряд опытов с окислением сорбита в присутствии глюкозы и без глюкозы, в которых по истечении четырех дней была получена и определена кристаллическая сорбоза.

Это тем более необходимо, что по нашим наблюдениям в культуре Ac. suboxydans на глюкозе образуется не только 5-кетоглюконовая, но и другие вещества, восстанавливающие Фелингову жидкость. Вопрос об определении выходов кристаллической сорбозы ставил в свое время Уткин [2], исходя из таких же соображений об образовании восстанавливающих веществ.

Опыты проведены с Ac. suboxydans на дрожжевой среде с 10% сорбита и 1% глюкозы и такой же среде, но с добавлением мела. Контролем служила дрожжевая вода с 10% сорбитом. Засев, как обычно, двухсуточной культурой в 50 мл среды. Температура 30°. Продолжительность опыта четыре дня.

Культуральная жидкость опытных колб после осаждения белка и обесцвечивания жидкости 2% углем при нагревании отфильтровывалась на нутч-фильтре, и раствор сорбозы концентрировался в вакууме. Выпавшие кристаллы после отделения от маточного раствора промывались ледяной водой и высушивались при 30—50° в термостате. Повторно производилась кристаллизация из маточного раствора и промывных вод.

Данные этих опытов показали, что кристаллизация сорбозы из сорбитной среды без глюкозы всегда идет значительно лучше и быстрее, чем на среде с глюкозой. В опытах с 1% глюкозы в ряде случаев кристаллизация затрудняется, и во всех случаях получается более низкий процент сорбозы. Так, в опыте 2, когда на сорбите без глюкозы было получено в среднем 3,4703 г сорбозы, на среде с сорбитом и 1% глюкозы кристаллизация сорбозы не прошла.

В опыте 3 было получено сорбозы: на 10% сорбите — 3,3850 г, на 10% сорбите + 1% глюкозы — 2,6869 г, причем на глюкозе цвет сорбозы темный.

В табл. 5 приведены данные одного из опытов, когда кристаллизация шла без затруднений.

Таблица 5

Образование кристаллической сорбозы

Среда	Кристаллическая сорбоза	
	в г	в % по сорбиту
10% сорбит . . .	3,4492 3,6414 } 3,5453	69,7 73,6 } 71,6
10% сорбит . . . + 1% глюкозы .	2,5724 2,4164 } 2,4944	52,0 48,8 } 50,4
10% сорбит . . . + 1% глюкозы .	3,0836 3,3024 } 3,1930	62,3 66,7 } 64,5

Данные ряда аналогичных опытов подтверждают указанное выше положение о неблагоприятном влиянии глюкозы на процесс окисления

сорбита. Добавление 1% глюкозы значительно снижает накопление сорбозы. Добавление глюкозы и мела несколько выправляет процесс сравнительно с одной глюкозой, но выход сорбозы остается ниже и не достигает даже самых низких цифр, получаемых в процессе окисления сорбита в отсутствие глюкозы.

Опыты с Ac. suboxydans дают возможность заключить, что в присутствии глюкозы накопление сорбозы задерживается и что положение американских авторов, рекомендующих добавление глюкозы, не подтверждается.

Опыты с культурой Ac. aceti, обладающей способностью окисления сорбита, были поставлены в аналогичных условиях.

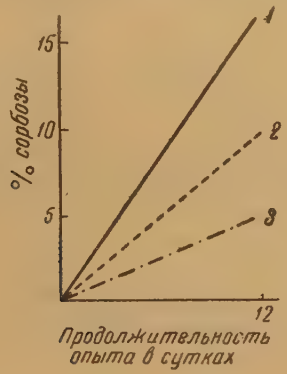


Рис. 5. Влияние глюкозы на выход сорбозы

1—10% сорбит; *2*—10% сорбит + 0,5% глюкозы; *3*—10% сорбит + 1,0% глюкозы

На рис. 5 приведены данные этих опытов. Окисление сорбита у этой культуры идет значительно медленнее и на 12-й день достигает всего 15—20%. Однако и здесь в опытах с добавлением глюкозы выход сорбозы ниже; на сорбите с 1% глюкозы падает до 5%. Как показали данные анализов, глюкоза окисляется с первых дней и задерживает образование сорбозы.

Таким образом, при наличии в среде двух веществ, окисление которых могут производить уксуснокислые бактерии, происходит одновременное их окисление. При окислении сорбита Ac. melanogenum в присутствии этилового спирта [1] мы наблюдали и образование сорбозы и уксусной кислоты, при окислении сорбита в присутствии глюкозы в культуре Ac. melanogenum, Ac. suboxydans, Ac. aceti также происходит одновременное окисление обоих веществ. Во всех этих случаях накопление сорбозы задерживается, устанавливаются конкурентные отношения и спирта и глюкозы по отношению к сорбиту. Глюкоза при окислении дает глюконовую кислоту, и в условиях подкисления образование 5-кетоглюконовой слабо выявляется даже у таких культур, как Ac. suboxydans. Однако при наличии кальция наряду с образованием глюконовой идет образование 5-кетоглюконовой, которая определяется по Бертрану, что и является причиной ошибочных заключений о повышении выхода сорбозы в присутствии глюкозы, когда пользуются этим методом для определения сорбозы.

Выводы

1. При одновременном присутствии в среде сорбита и глюкозы уксуснокислые бактерии Ac. suboxydans и Ac. aceti производят окисление и того и другого вещества. Глюкоза, конкурируя с сорбитом, понижает накопление сорбозы. На 2% сорбите добавление 2% глюкозы вызывает у Ac. suboxydans снижение на 20%; при добавлении 3% глюкозы к 15% сорбиту образование сорбозы падает почти в два раза.

2. При добавлении к среде с сорбитом и глюкозой $CaCO_3$ процент сорбозы, определяемой по Бертрану, в культуре Ac. suboxydans повышается и в ряде случаев наблюдается выход, превышающий теоретически возможный. Это происходит вследствие образования 5-кетоглюконата, определяющегося по указанному методу, что и послужило поводом ошибочного заключения американских авторов, рекомендовавших добавление глюкозы и мела при окислении сорбита.

3. Определение кристаллической сорбозы показывает, что действительное образование сорбозы в этих случаях всегда ниже данных на чистом сорбите. При добавлении 1% глюкозы к 10% сорбитной среде образование сорбозы снижается на 20%, а при наличии глюкозы и мела на 7—10%.

Кафедра микробиологии
Ленинградского университета
им. А. А. Жданова

Получено 10. VI. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Разумовская З. Г. и Белинькая Л. И. Влияние этилового спирта на процесс окисления сорбита в сорбозу при синтезе аскорбиновой кислоты. Микробиология, XIV, 50, 1945.
2. Уткин Л. М. К вопросу о биологическом окислении сорбита. Микробиология, VI, 902, 1937.
3. Wells P., Stubbs I. Lockwood L. and Roe E. Production submerged growth of Ac. suboxydans. Ind. Ing. Chem. 29, 1385, 1937.
4. Prescott S. and Dunn C. Industrial microbiology, N. Y. 1940.

ОБРАЗОВАНИЕ РИБОФЛАВИНА В МИЦЕЛИИ ASP. FLAVUS ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ЕГО НА ФИЛЬТРАТЕ ЗЕРНОВОЙ БАРДЫ

М. И. Залесская

Получение чистых препаратов рибофлавина — витамина, имеющего особенное значение для здоровья не только людей, но и животных, пока не осуществлено.

Поэтому изучение способности плесневого гриба Aspergillus flavus к синтезу рибофлавина с целью получения витаминизированного мицелия представляет несомненный не только теоретический, но и практический интерес.

Экспериментально обоснованные данные о микробиологическом синтезе витаминов появились в литературе относительно недавно — вслед за открытием пенициллина, когда у исследователей возрос интерес к физиологии плесневых грибов.

Вероятно, наблюдения над Asp. flavus, сделанные Понтович [7], и ее данные о содержании в мицелии этого гриба необычайно большого количества рибофлавина легли в основу дальнейшего изучения процесса образования рибофлавина биохимическим путем.

Однако объектами исследования почти во всех других работах были грибы: Eremothecium ashbyii, Asp. niger, различные дрожжеподобные грибы (Torula, Candida) или грибы из рода Penicillium [5, 6, 11, 12, 13, 14 и 16]. В работах же, касающихся физиологии Asp. flavus, приводятся данные не по рибофлавину, а в них описываются опыты получения аспергиллиновой кислоты и флавицидина — веществ, обладающих антибиотическими свойствами [15].

По имеющимся литературным данным [1, 2, 3, 6, 7, 13, 16], сведенным в табл. 1, содержание рибофлавина, образуемое названными выше микроорганизмами, колеблется в пределах от 12 до 59 γ на 1 г сухого вещества мицелия или достигает 420—856 γ в 1 мл культуральной жидкости.

Эти количества значительно превосходят данные по содержанию рибофлавина в таких кормовых продуктах, каким являются луговая трава, отруби или дробина барды [9, 10].

Во всех работах по изучению образования рибофлавина микроорганизмами последние культивировались на искусственных средах. Барда, получаемая как отход спиртового или ацетонового производства, в качестве субстрата не применялась.

Однако известно, что в состав спиртовой барды входят: углеводы (в виде декстринов, гемицеллюлоз, клетчатки, а иногда и следов крахмала, азотистые и минеральные вещества, жир и витамины [9, 10].

Только в одной работе [16] указывается, что добавление к искусственной среде 0,3% растворимых веществ барды повышало почти в два раза количество рибофлавина в культуральной жидкости.

Возможность использования барды для культивирования на ней Asp. niger или Asp. oryzae с целью получения грибного солода была показана работами Всесоюзного научно-исследовательского института спиртовой промышленности. Однако отношение плесневых грибов, а тем более

Таблица 1

Содержание рибофлавина в кормовых продуктах, дрожжах и плесневых грибах

Кормовой продукт	Рибофлавин γ/г	Объект исследования	Рибофлавин
Луговая трава	1,42	Пивные дрожжи	30—34,7—39 γ/г
		Candida Guill rmondia	118—175 γ/мл
Отруби (рисовые)	1,37—3,3	» Flareri	325—420 γ/мл
Дробина барды	3,3—4,5	Penicillium chrysogenum	32—55,2 γ/г
		» notat m	26 γ/г
		» crustosum	12,3 γ/г
Фильтрат зерновой барды	13,0—40,0	Asp. niger	13,3—15,6 30—36 γ/г
		Eremothecium Ashbyii	56.5 γ/мл за 7 дней роста 856 γ/мл за 19 дней,
		Ashbyii Gossypii	381 γ/мл за 8 дней
		Asp. flavus	2500 γ/г
Кормовые дрожжи Torula, Mycotorula	49—59	Клетки Azotobacter	304—350 γ/г микробной массы, содержащей 85% воды

Asp. flavus к отдельным питательным веществам, входящим в состав барды, было неизвестно.

Поэтому в предлагаемой работе были изучены следующие вопросы:

1) влияние состава различной барды на использование грибом растворимых веществ фильтрата спиртовой барды и выход сухого мицелия;

2) накопление рибофлавина в мицелии при выращивании его на барде различной концентрации;

3) образование рибофлавина в мицелии при различной продолжительности роста гриба.

Методика работы

Культура гриба Asp. flavus была получена из Московского государственного университета от проф. Курсанова. Выращивание гриба проводилось на поверхности стерильного фильтрата барды, нейтрализованного добавлением 0,5% мела. Толщина слоя жидкости была не выше 1,5—2 см. Дополнительные питательные вещества не вносились за исключением специальных опытов, имеющих целью проверку влияния того или иного фактора на рост мицелия. Засев среды проводился взвесью спор. Культивирование гриба продолжалось 2—3—5 дней и больше — в специальных опытах.

Полученный мицелий анализировался на содержание в нем сухих веществ, общего азота и витамина B_2.

В культуральной жидкости, так же как и в исходной среде, определялось количество оставшихся углеводов (после гидролиза 2% HCl в течение трех часов), общего азота (по Кьельдалю) и рибофлавина люмифлавиновым методом [4].

В некоторых таблицах углеводы, содержание которых определялось указанным выше методом, носят условное название «сахар».

Культивирование Aspergillus flavus на фильтрате зерновой барды

Чтобы выяснить отношение гриба Asp. flavus к углеводам и азотистым веществам, входящим в состав жидкой части барды, были проведены опыты на различной барде: ячменной, кукурузной, овсяно-просяной, картофельной и пшеничной.

Полученные при анализе культуральной жидкости данные, сведенные в табл. 2, свидетельствуют о том, что за один и тот же срок количество усвоенных углеводов и азота различно в зависимости от концентрации применяемого фильтрата барды и от вида сырья, из которого барда получена.

Так, за два дня роста на фильтрате ячменной барды потреблено 0,77 г, т. е. уже 64% содержавшихся в нем углеводов; на овсяно-просяном фильтрате — 0,96—1,09 г; на кукурузно-овсяной барде, содержащей значительно больше углеводов, потреблено 1,6 г (величины потребления сахара, выраженные в процентах по отношению к начальному количеству сахара, несколько колеблются).

В конце роста, т. е. за 3—5 дней, на ячменной и кукурузной барде углеводы потребляются почти полностью на 93%.

Потребление азота за один и тот же срок — за два дня — также различно в зависимости от применяемого фильтрата барды. Повидимому, наиболее пригодными для питания гриба являются азотистые вещества кукурузно-овсяной (смешанной) барды, поскольку за два дня роста на этой барде было потреблено значительно больше азота, чем при выращивании этого гриба на других видах фильтрата барды. За указанный срок было усвоено уже 69% азота, находящегося в среде. Почти такое же потребление азота было при росте гриба на ячменной барде, на которой за два дня было усвоено 60%, а за три дня даже на более богатой углеводами и азотом ячменной барде было усвоено 88,8% азота.

Значительно хуже усваивался азот овсяно-просяной и картофельной барды (табл. 2).

Таблица 2

Потребление углеводов и азота барды при росте на ней Aspergillus flavus

Используемый фильтрат барды	Углеводы в среде, в 100 мл г	Азот в среде, в 100 мл	Продолжительность роста в днях	Потреблено углеводов		Потреблено азота		Сухой вес гриба со 100 мл среды
				г	%	мг	%	
Ячменная	1,209	69,7	2	0,773	64,0	42,28	60,6	1,22
	1,209	69,7	3	1,124	93,0	38,92	55,8	1,30
Овсяно-просяная	1,38	52,08	2	1,094	77,6	23,08	44,3	0,95
»	1,38	52,08	2	0,96	69,7	16,66	29,1	0,65
»	1,29	58,80	4	1,090	84,5	—	—	0,74
Овсяная	1,16	88,60	2	0,61	52,60	—	—	0,67
Картофельная . .	2,27	116,10	2	0,827	36,4	37,31	32,13	0,756
» . .	2,27	116,10	2	0,938	41,3	47,80	41,10	0,86
Пшеничная . . .	2,52	172.2	2	1,23	48,96	—	—	0,98
» . . .	2,52	172,2	4	1,94	77,14	—	—	2,23
Кукурузно-овсяная	2,81	180,0	2	1,615	57,40	124,80	69,3	0,91
»	2,81	180,0	5	2,62	93,25	142,40	79,11	1,37
Ячменная	3,00	246,54	3	1,95	64,97	218,98	88,82	2,56

О полноте использования грибом питательных веществ фильтрата барды свидетельствуют также данные по содержанию сухих веществ в исходной среде и культуральной жидкости. Количество сухих веществ фильтрата барды после роста на нем гриба уменьшается в зависимости от исходной концентрации и от продолжительности культивирования: в два раза за два дня на среде, содержащей высокое для фильтрата барды количество сухих веществ и в 6,5 раза на этой же среде в конце культивирования. На грубом фильтрате ячменной барды, содержащей

4,5—4,8% сухих веществ, за 4 дня роста уменьшение сухого веса 100 мл барды (культуральной жидкости) происходит в 4—5,5 раза, т. е. сухие вещества используются на 75—82%; на фильтрате овсяной барды за 2,5 дня роста — на 81,6%.

Таблица 3

Снижение сухих веществ фильтрата барды при росте на нем Aspergillus flavus

Название барды	Сухие вещества 100 мл фильтрата барды	Сухие вещества 100 мл культуральной жидкости	Во сколько раз уменьшается содержание сухих веществ	Использование сухих веществ, %	Продолжительность в днях
Фильтрат ячменной барды	4,489	0,8159	5,5	81,9	4
То же	4,82	1,190	4,0	75,0	4
» »	7,36	3,950	1,8	46,5	2
» »	7,36	1,140	6,46	84,6	7
Грубый фильтрат овсяной барды . . .	9,39	1,735	5,3	81,6	2,5

В табл. 2 обращает на себя внимание выход сухого вещества мицелия, получаемого со 100 мл барды. Выход колеблется в зависимости от концентрации углеводов и азота в барде и, безусловно, от периода роста, когда среды содержат много питательных веществ.

При росте на фильтрате ячменной барды в течение двух суток со 100 мл среды получается от 1 до 1,3 г сухого вещества; на кукурузной и пшеничной барде — за двое суток выход составляет 0,91—0,98 г.

На бедной по составу овсяной, овсяно-просяной или картофельной барде сухой вес мицелия со 100 мл среды за два дня роста равен — 0,67—0,81 г.

Необходимо также заметить, что рост мицелия на осветленном фильтрате протекает интенсивнее, чем на грубом фильтрате, который для ускорения роста требуется частично нейтрализовать щелочью до слабокислой реакции (pH=6,5—6,3). Необходимость в такой нейтрализации объясняется, вероятно, тем, что без нее добавленный в среду мел быстро покрывается оседающими на мел взвешенными частицами и нейтрализация задерживается.

Содержание рибофлавина в мицелии при культивировании Aspergillus flavus на барде различной концентрации

Получаемый в различных опытах мицелий анализировался на содержание в нем сухих веществ, азота и рибофлавина. Результаты первых опытов сведены в табл. 4. Они говорят о том, что наибольшим количеством рибофлавина, равным 92—75 γ/г сухого вещества, обладает мицелий, полученный культивированием гриба на ячменном фильтрате барды в течение двух суток. Меньше витамина — 54 γ/г содержит мицелий с пшеничной барды, еще меньше — с овсяно-просяной и кукурузной барды. Мицелий, выращенный на картофельной барде, рибофлавина почти не имеет.

По Левину [5], изучавшему динамику образования рибофлавина у Asp. niger количество этого витамина в пленке находится в зависимости от содержания в ней азота. В приведенных выше данных это наблюдается только в одном опыте при росте гриба на ячменном фильтрате барды. В других опытах такой закономерности нет.

Таблица 4

Влияние различной среды и продолжительности роста Aspergillus flavus на содержание рибофлавина в мицелии

Среда	Сырой мицелий, г	Сухой мицелий, г	Азот в мицелии, %	Рибофлавин, γ/г	Потребление углеводов, г	Потребление азота, мг	Продолжительность роста в днях
Ячменно-овсяный фильтрат барды	7,5	1,22	4,23	74,73	0,774	42,28	2
Ячменный фильтрат барды	25,5	3,85	4,63	33,75	3,62	120,05	10
Овсяно-просяной фильтрат барды	3,5	0,37	—	49,01	—	11,76	2
То же	6,2	0,86	—	35,40	—	—	4
» »	6,25	0,74	4,44	34,99	1,08	34,2	4
Фильтрат пшеничной барды	8,5	0,98	—	53,80	1,23	—	2
Ячменный фильтрат барды	8,8	1,676	7,86—7,98	92,25	1,07	98,62	2
Фильтрат кукурузной барды	3,3	0,45	5,34	39,64	0,8075	62,40	2
» »	5,5	0,69	5,37	18,47	1,3125	71,25	5
Картофельная барда	4,2	0,756	5,17	4,8	0,827	37,3	2
	4,3	0,86	5,80	6,7	0,938	47,8	2

Полученные данные позволяют предположительно сделать другой вывод. Повидимому, образование рибофлавина и накопление его в мицелии зависит от потребления не только азотистых веществ, но главным образом углевода [1]. Об этом говорят опыты культивирования гриба на ячменном фильтрате барды. Именно: чем больше было потреблено сахара, тем выше содержание рибофлавина. Напротив, несмотря на большое потребление азота в опыте с кукурузной бардой, содержание рибофлавина в полученной за тот же срок (два дня) грибной пленке ниже в два раза, так как сахара потреблено меньше.

Для выяснения условий, способствующих образованию рибофлавина, были поставлены опыты с добавлением глюкозы или азотистых веществ в виде пептона, сернокислого аммония или азотнокислого натрия к фильтрату ячменной барды; кроме того, проводилось культивирование на двух разных по составу искусственных средах.

В первом опыте с добавлением глюкозы к фильтрату барды рибофлавин определялся в экстракте, полученном из всего мицелия, путем растирания его в растворе 25% хлористого калия, растворенного в 2% уксусной кислоте. Поэтому данные по рибофлавину приведены в гаммах на все количество экстракта, а не на 1 г сухого вещества экстракта. Проведенный опыт показал, что на среде с добавлением глюкозы мицелий содержал рибофлавина в $1^1/_2$ раза больше, чем мицелий, выращенный на контрольной ячменной барде без глюкозы. При этом количество потребленного сахара было также в $1^1/_2$ раза выше; потребление же азота в опытной колбе было меньше, чем в контрольной (табл. 5).

В этом же опыте в других двух колбах было поставлено выращивание гриба на той же барде, которая применялась в контроле, но с добавлением сернокислого аммония. Из этой среды мицелий потребил почти такое же количество сахара, как и в контроле без сернокислого

[1] Поскольку углеводы являются, вероятно, основным материалом, необходимым для синтеза рибофлавина.

Таблица 5

Культивирование Aspergillus flavus на ячменном фильтрате барды с добавлением глюкозы и сернокислого аммония

№№ колб	Условия опыта	Сахар в среде в 100 мл	Азот в среде, мг в 100 мл	Сахар в культуральной жидкости, г	Потреблено сахара		Азот в культуральной жидкости, мг	Потреблено азота		Рибофлавин в экстракте из мицелия	Продолжительность роста в днях
					г	%		мг	%		
1и2	Добавлен 4% раствор глюкозы	2,614	76,86	0,9067	1,607	61,48	37,80	42,63	53,0	13,5γ	5
3и4	Добавлен $(NH_4)_2SO_4$	1,014	160,86	0,1627	0,851	83,94	9,597	131,26	93,18	Флюоресценция фиолетовая	5
5и6	Контроль	1,342	102,48	0,3840	0,958	71,30	47,04	55,44	54,10	9,42γ	5

аммония, а количество потребленного азота было в 2½ раза больше. Однако экстракт из мицелия не имел рибофлавина или последний был в каком-либо связанном с белком состоянии, вследствие чего экстракт не давал обычной зеленой флуоресценции, свойственной рибофлавину; флуоресценция была фиолетовая.

Искусственные среды, предназначенные для опытов, были подобраны так, что одна среда отличалась от другой в два раза большим содержанием сахара, но при этом в ней было в два раза меньше и азота, чем во второй среде, содержащей меньше сахара, но больше азота. Развитие в двух средах продолжалось 4 дня. Анализ культуральной жидкости и мицелия подтвердил полную зависимость между содержанием рибофлавина в мицелии и количеством потребленного грибом сахара, именно: содержание витамина было в 1,3 раза выше в том мицелии, который потребил в 1,6 раза больше сахара; при этом урожай гриба был в два раза больше, чем на среде, из которой сахара было потреблено меньше.

Таким образом, несмотря на то, что содержание азота в мицелии было ниже, он был богаче рибофлавином. Наоборот, мицелий, содержавший больше азота, но потребивший меньше сахара, содержал меньше рибофлавина (табл. 6).

Для изучения влияния азотистых веществ на синтез рибофлавина в фильтрат ячменной или овсяной барды добавлялись пептон или азотнокислый натрий.

Как и следовало ожидать, азот пептона охотно потребляется клетками грибного мицелия, но вместе с этим потребление азота пептона способствовало, повидимому, и потреблению сахара, которое на среде с пептоном было в 1,34 раза выше, чем в контроле. В соответствии с этим и количество рибофлавина на среде с пептоном было в 1,2 раза больше.

Добавление азотнокислого натрия резко снизило содержание рибофлавина в мицелии; при этом потребление азота было необычайно мало, а вместе с этим и количество потребленного сахара было ниже, чем в контроле (табл. 7).

Образование рибофлавина в мицелии на различных стадиях роста

При рассмотрении данных по содержанию рибофлавина в получаемых препаратах мицелия на первый взгляд кажутся непонятными довольно значительные колебания в количестве витамина.

Таблица 6

Культивирование Aspergillus flavus на искусственных средах

Сахар в среде		Азот в среде		Сахар в культуральной жидкости, г	Потреблено сахара		Азот в культуральной жидкости, г	Потреблено азота		Сухой вес мицелия, г	Сухой вес мицелия со 100 мл среды	Азот в мицелии, %	Рибофлавин, γ/г		Продолжительность роста в днях
во взятом объеме, г	в 100 мл	во взятом объеме, г	в 100 мл		г	%		мг	%				в мицелии	в культуральной жидкости	
2,403	3,205	105,78	141,05	0,629	1,774	73,8	40,6	65,18	61,6	0,9015	1,202	6,32	91,7	18,75	4
1,11	1,48	233,62	311,5	0,0095	1,1005	99,1	147,9	85,72	36,69	0,365	0,486	7,67	71,25	Нет	4

Таблица 7

Образование рибофлавина в мицелии при росте Aspergillus flavus на ячменной барде с добавлением пептона или азотнокислого натрия

Условия опыта	Сахар в среде, мг	Азот в среде, мг	Сахар в культуральной жидкости, мг	Потреблено сахара		Азот в культуральной жидкости, мг	Потреблено азота		Сухой мицелий со 100 мл среды	Рибофлавин, γ/г	Азот в мицелии, %	Продолжительность роста в днях
				мг	%		мг	%				
40 мл фильтрата барды + 10 мл 5% раствора пептона . .	483,6	216,12	68,25	415,35	85,92	109,2	106,92	49,47	1,18	88,01	8,96	2
40 мл фильтрата барды + 10 мл 1,2% раствора $NaNO_3$.	483,6	28,32	157,75	325,85	67,60	16,52	11,80	41,67	1,21	15,18	4,66	2
Фильтрат барды 50 мл . . .	604,5	34,86	217,62	386,88	64,0	13,72	21,14	60,64	1,22	74,73	4,23	2

Кроме того, в некоторых опытах рибофлавин содержался только в мицелии; иногда же он находился и в культуральной жидкости. Выяснить причину сохранения рибофлавина в грибной пленке или перехода его в среду, на которой гриб развивается, было существенной необходимостью, поскольку культуральная жидкость по содержанию азотистых веществ и углеводов не представляет уже почти никакой питательной ценности. Но если витамин будет переходить из гриба в раствор, на котором он рос, то для приготовления концентратов этого витамина потребуется выпаривать большое количество культуральной жидкости.

При анализе экспериментальных данных было замечено, что культуральная жидкость содержит рибофлавин только при длительном выращивании гриба; при этом мицелий содержит относительно небольшое количество рибофлавина.

Сделанные наблюдения позволили предположить, что образование рибофлавина свойственно только молодым, растущим клеткам гриба и что с возрастом мицелия, вследствие все более преобладающих над синтезом процессов распада, происходящих в старых клетках, рибофлавин будет переходить из мицелия в раствор подобно тому, как это происходит при автолизе дрожжей при определении в них связанного рибофлавина.

Для проверки этого предположения были поставлены опыты, в которых мицелий и культуральная жидкость анализировались на различных стадиях роста. Полученные при этом данные экспериментально доказали правильность высказанного предположения и подтвердили мысль о том, что переход витамина, вероятно, связан с начинающимся распадом клеток мицелия, так как цифры потребления азота в длительных культурах являются, повидимому, заниженными по сравнению с данными для тех же культур в молодом возрасте. Вероятно, в результате обмена веществ, а может быть, и вследствие начинающегося автолиза, азот переходит из мицелия в среду, на которой растет гриб. Внешним признаком старения культуры является наличие капелек жидкости, точно росы поверх спор гриба.

Итак, молодые двухдневные культуры значительно богаче рибофлавином. В это время спороношение едва начинается, причем споры окрашены в зеленовато-желтый, едва заметный цвет. Старый, хорошо спороносящий мицелий с темнозелеными спорами, рибофлавина почти не имеет; весь витамин или бо́льшая его часть находится при этом в культуральной жидкости. Особенно наглядно подтверждают сказанное анализы опытов более старых культур (табл. 8 и 9).

Таблица 8

Культивирование Aspergillus flavus на кукурузно-овсяной барде при различной продолжительности опыта

Продолжительность роста в днях	Потреблено сахара		Потреблено азота		Вес мицелия, г		Рибофлавин в мицелии, γ/г
	г	%	мг	%	сырого	сухого	
2	0,8075	57,4	62,4	69,3	3,3	0,4534	39,64
5	1,3125	93,25	71,2	79,11	5,5	0,6864	18,47

Сделанные наблюдения и экспериментально найденные условия образования рибофлавина и сохранения его в мицелии имеют значение в выборе метода получения из барды витаминизированных белковых препаратов.

Таблица 9

Культивирование Aspergillus flavus на ячменном фильтрате барды при различной продолжительности опыта

Сахар в среде, в 100 мл в г	Азот в среде, в 100 мл в мг	Продолжительность роста в днях	Потреблено сахара		Потреблено азота		Сухой вес мицелия со 100 мл среды	Азот в мицелии, %	Рибофлавин	
			г	%	мг	%			в мицелии γ/г	в культуральной жидкости γ/г
3,00	246,54	2	1,070	35,6	98,62	40,0	1,6766	7,86 –7,98	92,25	Не определено
3,00	246,54	3	1,95	64,97	218,98	88,82	2,56	6,11	58,5	
3,00	246,54	5	2,296	76,43	168,24	68,24	3,60	5,92	26,6	
1,67	123,2	4	1,075	64,17	57,45	46,60	1,18	5,67	50,5	Нет
1,67	123,2	18	1,485	88,60	56,00	45,52	1,45	—	25,0	40
1,67	123,2	18	1,517	90,50	58,88	47,79	1,44	—	11,5	50
3,78	177,8	2	3,27	86,6	91,7	51,0	Не определено		66,0	Нет
3,78	177,8	10	3,62	95,7	120,05	67,50	3,85	4,63	33,75	32,88

Проведенными опытами установлено, с одной стороны, что наибольшее количество рибофлавина содержат двухдневные культуры, с другой,— показано, что при двухсуточном росте бывает использовано только ⅔, а иногда и меньше сухих веществ фильтрата барды. Поэтому трудно сказать, что является более выгодным: несколько более удлиненный период роста, необходимый для полной утилизации питательных веществ барды, или культивирование в течение двух суток, требуемое для получения мицелия с большим содержанием витамина.

Решение основной задачи — использование питательных веществ барды — казалось более необходимым. Поэтому для того чтобы получить препараты, богатые рибофлавином, и полнее использовать вещества фильтрата барды, были проведены опыты двухфазного роста. После 1,5—2-суточного роста на ячменном фильтрате барды мицелий снимался, а в культуральную жидкость снова вносились споры гриба, и рост продолжался еще два дня.

При таком методе культивирования суммарный выход сухого вещества мицелия был равен 1,3—1,26 г со 100 мл фильтрата барды, т. е. выход оставался прежним. Однако мицелий полученный в первую фазу был богаче и рибофлавином и азотом. Содержание азота в первом мицелии равно 5,2—5,5%, во втором — 4,19—4,64%.

По количеству рибофлавина оба мицелия резко отличались: первый содержал 56—60 γ, второй — всего лишь 10,7—15,5 γ на 1 г сухого вещества.

Полученные результаты вполне понятны, так как они согласуются с выводами о влиянии состава среды на образование рибофлавина и накопление его в грибном мицелии. Вместе с этим проведенные опыты показали возможность почти полной утилизации сухих веществ фильтрата барды и получения препаратов различной ценности.

Выводы

1. Сухие вещества фильтрата зерно-картофельной барды являются вполне пригодными для питания плесневого гриба Aspergillus flavus.
2. При культивировании названного гриба сухие растворимые вещества барды используются на 85%.
3. Выход сухого вещества мицелия колеблется в зависимости от пе-

риода роста и от концентрации усвояемых грибом углеводов и азота в применяемом фильтрате барды.

4. Получаемые препараты мицелия содержат в своем составе 4,5—5,5% азота, т. е. в среднем 30—34% белковых веществ, и рибофлавин — от 30 до 92 γ на 1 г сухого вещества. Это количество рибофлавина значительно превосходит данные по содержанию этого витамина в обычно применяемых кормовых продуктах: в отрубях, зерновой барде и даже в кормовых дрожжах.

5. Содержание рибофлавина в мицелии колеблется в зависимости от концентрации применяемого фильтрата барды и периода роста.

6. При длительном культивировании гриба витамин из мицелия выделяется в культуральную жидкость.

Всесоюзный научно-исследовательский институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 4. V. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Бланков Б. И. Об использовании способности азотобактера синтезировать белки и витамины группы «В» для производства лечебно-профилактического препарата. Тр. Укр. ин-та им. Мечникова, т. X, 269, 1946.
2. Бланков Б. И. Технология массового производства препарата «азотобактер», как источника витаминов группы «В» на поверхности твердых питательных сред. Тр. Укр. ин-та им. Мечникова, т. X, 275, 1946.
3. Букин В. Н. Витамины, распространение, природа и свойства. Пищепромиздат, 1941, Москва.
4. Девятин В. А. Витамины. Пищепромиздат, 1948, Москва.
5. Левин Г. Г. Динамика образования витамина B_2 в грибе Aspergillus niger. Диссертация. Ленинградский гос. ун-т, 1947.
6. Поволоцкая К. Л. и Скоробогатова Е. П. Витаминные и ферментные свойства мицелия. Penicillium. Биохимия, **12**, 3, 1947.
7. Понтович В. Э. Aspergillus flavus как источник флавина. Биохимия, **8**, вып. 5 и 6, стр. 297, 1943.
8. Фениксова Р. В. Производство пищевых дрожжей из зерно-картофельной барды. Пищепромиздат, 1943, Москва.
9. Bauernfeind J. C., Smith M. B. and oth. Nutrient of alcohol fermentation by products from various grains. Cereal Chem., **21**, 421, 1944.
10. Boruff C. S. and Langlykke A. F. Vitamin content of distillers by-products. Ind. Eng. Chem., **32**, No. 2, 1237, 1940.
11. Levine H., Oyaas J. E. Wasserman L., Hoogerheide J. C. and Stern R. M. Riboflavin production by Candida yeasts. Food, 1948.
12. Peltier G. L. and Borchers R. Riboflavin production by molds. J. Bact., **54**, No. 4, 519, 1947.
13. Raffy A. et Fontaine M. Dosages de la flavine au cours du développement dans les cultures d'Eremothecium Ashbyii. C. R., **205**, No. 18, 1005. 1937.
14. Tanner F. W., Vojnovich Ch. and van Lanen J. M. Riboflavin production by Candida species. Science, **101**, 180, 1945.
15. White E. C. and Hill J. H. Studes on antibacterial products formed by molds J. Bact., **45**, No. 5, 1943.
16. Wicherham L. J. Flickinger M. H. and Johnston R. M. The production of ribovlavin by Ashbyii Gossypii. Archiv. Biochem., **9**, No. 1, 95, 1946.

ПОДБОР УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ УКСУСА ПО СКОРОМУ СПОСОБУ

Н. И. Гамова-Каюкова

Пионером по внедрению чистых культур уксуснокислых бактерий в промышленности заслуженно считается Шапошников. Впервые им, совместно с сотрудниками, был пущен уксусный завод в Казани на чистой культуре Bact. curvum [9]. Целесообразность работы на чистых культурах не вызывает сомнения.

В нашей работе излагаются проведенные нами исследования по подбору культур уксуснокислых бактерий, полузаводскому испытанию их и применению их для пуска уксусных производств по скорому способу.

Подбор уксуснокислых бактерий для производства спиртового уксуса по скорому способу

В основу целесообразного подбора уксуснокислых бактерий для получения уксуса по скорому способу должны быть положены не только практические, но и теоретические предпосылки. Но, к сожалению, в деле селекции уксуснокислых бактерий для получения спиртового уксуса так же, как и для виноградного, нет большого опыта [1, 6].

Геннеберг первый выделил из уксусообразователей «культурных» бактерий Bact. Schüzenbachii и Bact. curvum и впервые сделал попытку ввести их в практику уксусного дела [11]. При изучении микрофлоры работающих уксусообразователей некоторых заводов (Москва, Харьков) Мантейфель [5] и Ротмистров [8] обнаружили смесь разных видов уксуснокислых бактерий. Наряду с «культурными» бактериями типа Bact. Schüzenbachii, Bact. curvum, Bact. orleanense, выделялись так называемые «вредители» уксусного производства Bact. xylinum, Bact. xylinoides, Bact. ascendens и др. Из природных условий «культурные» виды уксуснокислых бактерий никем еще не выделялись. Очевидно, это адаптированные формы уксуснокислых бактерий, приспособившиеся к жизни на стружках в условиях непрерывного окислительного брожения с высоким содержанием уксусной кислоты. Следовательно, для выделения и селекции производственно ценных рас наилучшим источником могут быть уксусообразователи, работающие с высокой производительностью. Поэтому нами чистые культуры выделялись из уксусов и со стружек укусообразователей, производящих уксус высокой кислотности.

Методика исследований

Для выделения бактерий уксус из работающих уксусообразователей с высокой кислотностью высевался в количестве 1—2% на 8°. Блг. сусло со спиртом. Для выделения культур со стружек стерильно взятые из уксусообразователей образцы стружек помещались в широкогорлые колбы Эрленмейера с суслом с 4% спирта.

Выращивание посевов велось при 30°. Из выросших пленок производился посев на чашки Петри с сусловым агаром. Для определения энергии кислотообразования чистые культуры с косого суслового агара, полученные после вторичного рассева на чашки Петри, отвивались из

пленок, выращенных на сусле, в колбы Виноградского с суслом с 4% спирта. Спирт по мере потребления его бактериями добавлялся через стеклянную трубку, пропущенную сквозь ватную пробку до дна колбы, чтобы не повредить пленки бактерий. Малоактивные культуры отбраковывались, у активных рас еще раз проверялась чистота культуры. Затем подробно изучались их биохимические и культуральные свойства общепринятыми методами. Рост культур при разных температурах изучался на сусле со спиртом и на разбавленном вине.

Характеристика выделенных культур

В табл. 1 дана сравнительная характеристика выделенных активных культур уксуснокислых бактерий из уксусообразователей разных заводов. Активные культуры в отношении кислотообразования, как видно из таблицы, представлены разными видами бактерий и даже бактериями с кожистыми пленками. Однако последние не могут рекомендоваться для производства уксуса не только из-за плохих вкусовых свойств, но также из-за их способности окислять уксусную кислоту в присутствии спирта (переокисление) [10]. Культуры — вариант Bact. Schüzenbachii 21 и Bact. Schüzenbachii 2 и 2г3 — не окисляли ксилозы, фруктозы, сахарозы, мальтозы, рафинозы, рамнозы, маннозы, декстрина, глицерина и бути-

Таблица 1

Характеристика культур уксуснокислых бактерий, выделенных из уксуса и стружек разных уксусных заводов

Источник выделения: стружки и уксус	Вид	Кислотность уксуса в %: исходный материал	Кислотность уксуса в %: у культур через 2 мес.	Характеристика пленки
Московский завод	Вариант Bact. Schüzenbachii 21	10,2	9,2	Рыхлая, не прочная, прикрепляется к стенкам
	Bact. Schüzenbachii 51	9,6	9,7	Островчатая, непрочная
	» xylinum 19	10,2	8,8	Кожистая
	» » 19a	10,2	8,2	»
	» » 19в	10,1	8,8	»
	» xylinoides 93	9,6	9,4	Слизистая, прочная
Ленинградский завод	Bact. Schüzenbachii 2	10,0	10,2	Островчатая, непрочная
	» » 2г4.	10,0	9,2	То же
	» » 2г3.	10,0	9,6	»
Уксусный цех Одесского консервного завода	» xylinoides O_4	8,0	9,0	Слизистая, прочная
»	» ascendens O_2	8,0	6,5	Тонкая, всползает по стенкам
»	» Schüzenbachii O_7	8,0	7,6	Островчатая, непрочная

лового, изобутилового, пропилового, метилового спиртов. Указанные культуры окисляли глюкозу, галактозу; культуры 21 и 2 окисляли и лактозу. Культура 2, кроме того, окисляла еще и арабинозу. Все культуры росли на пиве и не росли на виноградном вине с 11% спирта, за исключением культур 2г3, 2г4. Желатину не разжижали. На МПА рост

появлялся на 6—8-й день. Подвижных культур не было обнаружено. Все культуры не окрашивались по Граму и иодом. Размер колоний на сусловом агаре у культуры 21, а также у культуры 2 и 2г3 достигал 1—2 мм через 48 часов. Колонии имели желтоватый центр. Морфологически это были изогнутые палочки, не образующие цепочек. При наличии в среде спирта в количестве 4, 5, 6, 7% развивались все культуры; при 8% спирта в сусле наблюдалось у некоторых культур более позднее появление пленки или полное отсутствие роста. Культуры 21, 2, 2г3, выделенные из уксусов разных заводов, были идентифицированы, как типичные представители бактерий скорого способа, и могли быть рекомендованы для отбора и испытания их на полузаводских установках. Однако культура 21, помимо хороших вкусовых свойств, необычайно быстро образовывала пленку, прикрепляющуюся к стенкам колбы. Культура развивалась в довольно широких температурных границах от 37° до 8°. Культура 2, наоборот, развивалась очень медленно. Пленка появлялась на 6-й день при 30—20°, при 8° — не росла, а при 35° пленка появлялась только на 9-й день.

Кислотообразование и производительность у выделенных культур в зависимости от кислотности затора [1]

Необходимость в постановке опытов по изучению кислотообразующей способности у выделенных культур при различной кислотности затора, поступающего круглосуточно в уксусообразователь типа Шюценбаха на полузаводских установках, была вызвана целым рядом вопросов, возникших у нас в процессе исследования. Специфика уксусного производства требует особого изучения селекционируемых рас уксуснокислых бактерий. Культура, однажды внесенная в уксусообразователь, акклиматизировавшись в нем, работает в течение ряда лет. Введение новой культуры в работающие аппараты граничит почти с новым пуском уксусообразователей [4].

Нам, кроме того, для пуска новых заводов надо было выбрать наилучшую культуру из имеющихся у нас. Задача была трудная: ее можно было решить только после всестороннего изучения культур на полузаводских установках [12].

Мы не нашли в литературе также обстоятельного ответа относительно оптимальной кислотности затора, который следует применять в производстве спиртового уксуса. Обычно на заводах применяется затор с кислотностью 6—7%.

Сравнительные опыты по изучению производительности разных культур мы производили в специально оборудованной термостатной комнате, где было установлено несколько деревянных уксусообразователей, устроенных по типу производственных. Каждый образователь был меньше среднего производственного аппарата в 20 раз по объему и был снабжен термометром, водомерным стеклом и сливным краном. В крышке аппарата имелось смотровое стеклянное окно для наблюдения за правильной работой стеклянного сегнерова колеса, с помощью которого производилось круглосуточное питание бактерий, находящихся в аппарате на стружках. Пастеризованный затор автоматически поступал из стеклянной бутыли с тубусом через капилляр в наполнительную стеклянную воронку, соединенную со стеклянным сегнеровым колесом, и равномерно орошал стружки. Стеклянный колпак защищал затор, поступающий через капилляр в воронку, от воздушной инфекции. В пазах крышки все щели заклеивались парафинированной марлей. Точно так же были смонтированы и два заводских образователя (рисунок).

Предварительная обработка стружек уксусообразователей и пуск производились по методу Шапошникова [10] с некоторыми изменениями, внесенными нами. После окисления стружек, т. е. пропитывания их уксусной кислотой, мы ввели еще дополнительное «спиртование» стружек, т. е. вносили затор с повышенным содержанием спирта (6,5% кислоты, 10% спирта) до внесения культуры в аппарат. Такое предва-

[1] Затор обычно готовится для уксуснокислых бактерий из готового уксуса, который разбавляется водой до нужной концентрации уксусной кислоты. К нему добавляют спирт и питательные вещества (соли, солодовое сусло или дрожжевая вода).

рительное спиртование производилось для предотвращения возможных явлений переокисления при пуске новых уксусообразователей из-за недостатка спирта.

Внесение 48—72-часовой сусловой культуры уксуснокислых бактерий производилось в остывший до 37° уксусообразователь автоматически, через капилляр и сегнерово колесо. Затем вводился дополнительный пастеризованный затор с питательными солями для смыва бактерий вниз из верхней части уксусообразователя. Составлялся затор из уксуса с кислотностью 6,5% + 3—5% спирта + 50 мл сусла или дрожжевой воды + 1 г KH_2PO_4 и 3 г $(NH_4)_2HPO_4$ — из расчета на заводской уксусообразователь. Состав и количество затора в пусковой период варьировали в зависимости от температуры в образователе, наличия остаточного спирта и пр. При повышении температуры в образователе выше 38—40° увеличивалось количество затора. При остаточном спирте ниже 0,5% увеличивалось количество спирта. Количество кислоты и спирта в заторе составляло примерно 6—7% кислоты с 3—5% спирта. За ежесуточную производительность культуры принималось количество выработанной чистой уксусной кислоты, т. е. разность между количеством кислоты, находящейся в сливе уксуса, и тем количеством ее, которое внесено было вместе с затором.

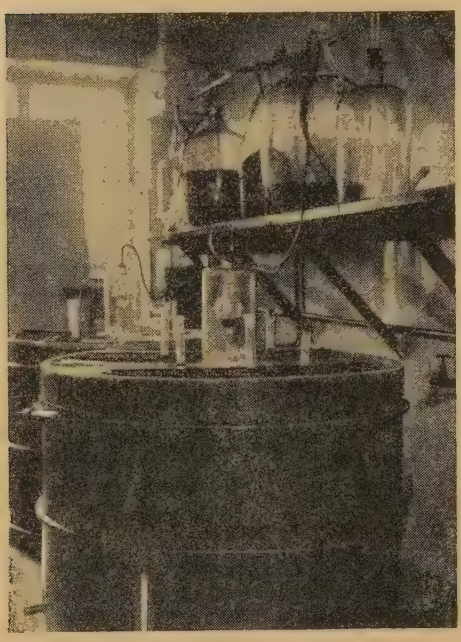


Рис. 1. Опытные уксусообразователи заводского типа

В табл. 2 представлены результаты испытания культуры варианта Bact. Schüzenbachii 21 на полузаводских установках. Культура испытывалась в течение трех месяцев. При 7% крепости уксуса в заторе наблюдался рост кислотности и производительности в течение 60 дней испытания. Максимальная кислотность уксуса достигала 11,0%, производительность — 2 кг уксусной кислоты за 24 часа в пересчете на заводской аппарат. В табл. 3 даны результаты работы этой же культуры во втором уксусообразователе, пущенном с целью изучения производительности культуры при разной кислотности затора. Повышение концентрации кислоты в заторе производилось постепенно. Кривая производительности неуклонно падает вниз с повышением кислотности затора выше 7,5%. Работа культуры 21 была также проверена в заводском аппара-

Таблица 2

Кислотообразование и производительность культуры варианта Bact. Schüzenbachii 21 на полузаводской установке

Продолжительность опыта в днях	Кислотность в заторе в %	Кислотность уксуса в %		Ежесуточная производительность уксус. к-ты в пересчете на зав. аппарат в г
		средняя	максимальная	
10	5,9	5,41	6,0	158
10	5,7	7,7	8,7	1515
10	6,7	8,7	9,1	1356
10	7,0	8,5	9,6	968
10	7,0	9,0	9,9	1292
10	7,0	9,5	10,1	1595
10	7,0	9,9	11,0	1841
10	7,0	10,0	11,2	2009

Таблица 3

Кислотообразование и производительность варианта Bact. Schüzenbachii 21 при разной кислотности затора

Продолжительность опыта в днях	Кислотность в заторе в %	Кислотность уксуса в %		Ежесуточная производительность уксус. к-ты в пересчете на зав. аппарат в г
		средняя	максимальная	
10	5,9	6,7	7,5	582
10	6,6	7,6	9,6	1621
10	6,9	8,9	9,4	1550
10	7,5	9,1	10,9	1776
10	8,0	10,1	10,4	1550
10	9,0	10,5	11,4	833
10	10,0	11,3	11,8	439—697
10	10,6	11,1	11,8	425
10	11,0	11,3	12,2	299

те. Изучалась ее производительность в течение 45 дней. Через 20 дней со дня пуска кислотность уксуса в сливе достигла 8,32%. В течение последующих 25 дней она повысилась с кислотности 6% до 9,1—9,45% при заторе 80 л. Только после этого культура была рекомендована для пуска нового уксусного цеха.

Уксус, полученный на этой культуре, отличался приятным ароматом и мягкостью вкуса.

Характеристика работы других культур Bact. Schüzenbachii при разной кислотности затора

В табл. 4 представлены результаты довольно длительных наблюдений за работой трех культур Bact. Schüzenbachii при разной кислотности затора. Как видно из таблицы, первая декада после пуска новых уксусообразователей обычно характеризовалась низкой производительностью. Культура расселялась на стружках, приспосабливалась к условиям существования в образователе. В эти дни возможны были случаи переокисления в отдельных местах уксусообразователя, да и, кроме того, в первые дни происходит еще диффузия в окисленных стружках, пропитанных водой во время экстрагирования. Поэтому и производительность бывает невысокой (табл. 2, 3, 4). В дальнейшем наблюдалось повышение кислотности уксуса и рост производительности. Особенно это резко заметно было при пуске образователей с низкой кислотностью (табл. 4, культура 2г3), что сопряжено с известным риском в отношении возможности загрязнения культуры.

Иерусалимский и Мантейфель считают, что целесообразно работать на заводах с затором средней кислотности 6—7% [2]. В наших опытах, при изучении производительности выбираемых культур, мы остановились на кислотности заторов в 7%, оставляя кислотность затора постоянной в течение довольно продолжительного времени (два-три месяца). Как видно из табл. 2 и 4, все четыре культуры постепенно повышали производительность при кислотности 7%, достигая 2 кг и выше. Очевидно, постепенно отбирались только те формы бактерий, которые были устойчивы к содержанию высоких концентраций уксусной кислоты. В этих условиях опыта имелись все предпосылки для действия агента кислотности и последующей селекции приспособившихся форм. С повышением кислотности затора выше 7% наблюдалось вначале снижение

Таблица 4

Кислотообразование и производительность различных рас культур Bact. Schüzenbachii при разной кислотности затора

Культура 2				Культура 2г3				Культура X			
Продолжительность опыта в днях	Кислотность в %		Производительность укс. к-ты за 24 часа в г	Продолжительность опыта в днях	Кислотность в %		Производительность укс. к-ты за 24 часа в г	Продолжительность опыта в днях	Кислотность в %		Производительность укс. к-ты за 24 часа в г
	затора	уксуса			затора	уксуса			затора	уксуса	
10	6,0	6,8	430	10	4,6	5,6	400	10	6,0	5,5	0
10	6,0	7,0	880	10	5,2	7,7	2307	10	6,0	7,1	685
				10	6,0	8,5	2432	10	6,4	8,2	1153
				10	6,6	8,9	1459	20	6,8	8,5	1162
10	6,3	8,6	1210	60	7,0	10,2	1513[2]	70	7,0	9,9	1478[3]
									7,5	9,9	1394
				20	7,5	9,4	1262	10	7,9	9,4	1322
90	7,0	9,8	1664[1]	20	7,6	9,2	1018	10	8,4	10,8	1527
20	7,5	10,7	1512	10	8,1	9,9	1214	10	8,6	10,5	1192
10	8,4	10,5	1135	10	8,5	10,5	1313	10	8,9	9,7	532
20	9,3	10,8	790	10	8,9	11,2	1451	20	9,5	10,7	780
10	10,0	11,0	216	10	9,2	9,9	450	10	10,0	10,6	638
10	«Обратн. заливки»	10,3		10	9,7	10,3	432	10	10,0	10,3	
				10	10,0	10,3	96	10	«Обратн. заливки»	10,8	
10		10,2		10	«Обратн. заливки»	10,5		10		11,5	
10		10,2		10		10,95		10		12,0	
				10		11,3		10		12,1	
				10		11,5		10	10	11,6	497
				10	10,2	11,4	302	11	11	11,8	570
				10	11	11,6	209				
				10	11	11,7	225				

[1] Взяты средние цифры. Постепенное нарастание производительности достигло 2100 г в течение 3 месяцев культивирования.

[2] Постепенное нарастание производительности достигло 2369 г в течение 2 месяцев культивирования.

[3] Постепенное нарастание производительности достигло 2130 г в течение 70 дней культивирования.

производительности, затем адаптированные формы приспосабливались к условиям жизни в среде с высоким содержанием кислоты и рост производительности снова повышался.

Так, у культуры 2г3 при 10% заторе производительность вначале снизилась до 96 г, но через 60 дней культивирования в условиях «обратных заливок» с кислотностью 10,3—11,5% ее производительность повысилась до 302 г. При заторе с кислотностью 11% производительность у этой культуры равнялась 225 г. Однако чувствительность к высоким концентрациям кислоты у изучаемых культур была различная. Культура 2 перестала работать при 10% крепости уксуса в заторе и не адаптировалась к этим условиям существования в течение 30 дней. Другие результаты были получены в опытах Работновой [7]: производительность культур уксуснокислых бактерий, испытываемых Работновой, держалась на наивысшем уровне при изменении концентрации уксусной кислоты от 5,3 до 6%. При повышении концентрации до 7,3% производительность снизилась и не повышалась в течение 32 дней. При дальнейшем повышении концентрации кислоты работа бактерий останови-

лась совершенно и не возобновлялась при снижении крепости уксуса до 7,54%.

Культуры, изучаемые нами, как видно из табл. 4, при культивировании их при концентрации уксусной кислоты от 7 до 7,4—7,5% продолжали работать с высокой производительностью в течение 60—90 дней. Так, у культуры 21 при повышении крепости уксуса до 7,5% производительность хотя и снизилась, но все же была достаточно высокой (1776 г, табл. 3).

При повышении крепости уксуса до 7,5 производительность у культуры X равнялась 1334 г. При культивировании этой культуры в течение 40 дней в условиях «обратных заливок» при кислотности 10—12% производительность ее достигла — 570 г при крепости затора 11%. Повидимому, при получении высококислотного уксуса селекционируются формы уксуснокислых бактерий, адаптированные к среде с высоким содержанием уксусной кислоты. Вне всякого сомнения, что путем адаптации возможно получение чистых культур, способных работать при высококислотном заторе с достаточно хорошей производительностью. К сожалению, в этом направлении наши работы не были продолжены.

Комбинированные культуры уксуснокислых бактерий

Учитывая преимущество применения комбинированных чистых культур в ряде других бродильных производств (раса дрожжей М, закваска для масла и пр.), мы полагаем, что имеются предпосылки и для изучения комбинированных культур уксуснокислых бактерий в этом направлении.

Была сделана попытка составить и изучить комбинации культур как из однотипных рас, так и из разных видов уксуснокислых бактерий. Комбинированные культуры изучались как в лабораторных условиях, так и на полузаводских установках. Лабораторные опыты не дали четких результатов, поэтому решено было перенести испытания на полузаводские установки. При постановке этих опытов создавались те же условия, что и при испытании монокультур. Культуры вносились в образователь в разных количествах. Составлены были две комбинации культур. Одна — из однотипных Bact. Schüzenbachii X и вариант Bact. Schüzenbachii 21, другая — из варианта Bact. Schüzenbachii 21 и Bact. orleanense 51-С. Культура Bact. orleanense 51-С была подробно нами описана [2] [1]. Как видно из табл. 5, так же медленно шло накопление кислоты в образователе в течение 1 декады, как и при изучении работы монокультур. К концу III декады производительность у этих культур превысила проектируемую для заводов и была выше, чем у монокультур.

В соответствии с нашими сведениями о подборе рас уксуснокислых бактерий для получения спиртового уксуса по скорому способу и для составления комбинаций из них необходимо руководствоваться следующими признаками.

1. Энергией кислотообразования.
2. Стабильностью первоначальных признаков (кислотность, характер пленки, выраженность вкуса — аромат и мягкость).
3. Скоростью размножения культуры.
4. Выносливостью по отношению к высоким концентрациям уксусной кислоты. Культуры, которые не работают при 7,5—8% и перестают работать при кислотности 10%, должны отбраковываться.
5. Широким температурным диапазоном развития и окисления.

Комбинации культур должны составляться из заведомо чистых рас уксуснокислых бактерий.

---

[2] Bact. orleanense по классификации Виссер-Хуфта близко примыкает к Bact. curvum (Красильников [3]).

Таблица 5

Кислотообразование и производительность комбинированных культур уксуснокислых бактерий для производства спиртового уксуса

Продолжительность в днях	Кислотность затора в %	Кислотность уксуса в %		Производительность укс. к-ты в пересчете на зав. образователь за 24 часа в г
		мин.	макс.	
Вариант B. Schüzenbachii 21 + B. Schüzenbachii X				
10	4,89	4,72	7,0	313
10	5,62	7,12	9,1	1545
10	6,0	9,1	10,0	2032
Вариант B. Schüzenbachii 21 + B. orleanense 51-C				
10	5,2	5,0	6,0	296
10	5,9	6,9	8,4	1192
10	6,0	8,4	9,5	1879
5	6,5	9,4	9,7	1970

Пуск новых уксусных цехов и заводов на чистых культурах уксуснокислых бактерий

Размножение культуры уксуснокислых бактерий в больших количествах и внесение их в уксусообразователи

Мы испытали два способа размножения уксуснокислых бактерий: 1) на стружках в уксусообразователе полузаводского типа, 2) на неохмеленном пивном 8% Блг. сусле с 4% спирта.

В первом случае на подготовку образователя для пуска, выращивания культуры и проверки ее работы и чистоты требовалось от 20 до 30 дней. Работа по обслуживанию уксусообразователей была трудоемкой, требовала большого внимания, асептических условий пуска образователя, что было сопряжено с необходимостью обслуживания аппаратов высококвалифицированным персоналом и наличием специального термостата. Перевозка культуры в аппарате на завод также требовала внимательного наблюдения. Сам процесс внесения культуры на стружках на заводе был сопряжен с опасностью инфекции посевного материала и самого уксусообразователя.

Второй способ — выращивания культуры на сусле вместе с подготовкой посуды и среды — требовал всего 48—72 часов. Культуры, доставленные на завод в пробирках или на листочках целлофана в стерильной упаковке, легко было размножить в бутылках с последующей перевивкой ее в бутыли емкостью на 15 л на неохмеленном пивном сусле с 4% спирта.

Оба эти способа размножения культуры и внесения ее в образователи были испытаны при пуске нового уксусного цеха. В первую группу аппаратов №№ 3, 9, 10, 11 была внесена культура 21 на стружках из привезенного уксусообразователя: стружки из образователя были высыпаны в стерильные ящики и смешаны со стерильной стружкой. После смешивания стружки укладывались в стерильные и окисленные уксусом образователи по 10—15 кг в каждый. Уксусообразователи подготовлялись к пуску, как это указывалось выше. После того как стружки с культурой были помещены в образователь, было дополнительно дано еще по 10—20 л сусловой 48-часовой культуры и затем сверх этого 20 л затора. Работа производилась в стерильных халатах, в резиновых

перчатках и респираторах. На второй день температура во всех образователях повысилась: в уксусообразователе № 11 до 42°, а в № 10 — на четвертый день достигла 39°. Поэтому пришлось увеличить количество затора и дать его в охлажденном виде.

В уксусообразователи № 4 и № 12 была дана только 48-часовая сусловая культура 21 в количестве 20 л после предварительного внесения «спиртового» затора в количестве 20 л. После внесения культуры был дан дополнительный затор для смыва культуры из верхней части аппарата в нижние слои стружек в количестве 20 л. Культура и затор давались автоматически, через капилляр. В этих образователях также быстро появились все признаки работы культуры (повысилась температура внутри образователя, наблюдалось запотевание стеклянного окна, наличие тяги). Резкое повышение температуры в этих аппаратах не наблюдалось (29—34°). Производительность достигала во II декаду 209—286 г уксусной кислоты; в аппаратах 1-й группы она достигла 111; 116; 250; 317 г.

Таким образом, производительность 1-й группы образователей мало чем отличалась от производительности аппаратов, пущенных на сусловой культуре. Через 6 месяцев кислотность уксуса была выше 9% при ежедневном заторе 80 л с кислотностью 6,5%. В образователях, пущенных Шапошниковым на культуре Bact. curvum, примерно были получены те же результаты [9].

Следующая серия уксусообразователей окислялась и пускалась после экстрагирования стружек и стерилизации образователей непосредственно уксусом из работающих с высокой кислотностью аппаратов. Через 30 дней в них кислотность достигла 8—9% и выше.

Считаю своим долгом выразить глубокую благодарность консультанту от Института микробиологии Академии Наук Н. Д. Иерусалимскому, заведующему лабораторией И. И. Саховалеру, под руководством которого производился монтаж и оборудование опытных уксусообразователей.

В экспериментальной работе принимали участие научный сотрудник С. В. Рович, лаборанты Н. И. Шабанова и Н. А. Ермакова.

Выводы

1. При выборе уксуснокислых бактерий для получения спиртового уксуса по скорому способу для пуска новых производств были отобраны культуры, способные работать при высоких концентрациях уксусной кислоты. При длительном изучении производительности четырех культур типа Bact. Schüzenbachii, культивируемых при различной кислотности затора, выявилось, что не все культуры способны адаптироваться к высокому содержанию уксусной кислоты (10%). Все изученные культуры работали с высокой производительностью при кислотности 7%

2. Для селекции производственно-ценных рас уксуснокислых бактерий следует производить выделение культур из уксусообразователей, работающих с высокой кислотностью (9—11%).

3. Пущенные на чистой культуре варианта Bact. Schüzenbachii 21 новые уксусные цехи быстро начали работать и кислотность уксуса достигала 8—10%.

4. При пуске нового уксусного цеха было испытано два метода размножения уксуснокислых бактерий и внесения их в уксусообразователи: 1) размножение культуры на 8° Блг. сусле со спиртом и внесение этой культуры в уксусообразователь с дополнительной дачей затора; 2) размножение культуры на стружках в уксусообразователе полузаводского типа и внесение ее на стружках в новые уксусообразователи. Производительность и кислотность уксуса в уксусообразователях, пущенных разными методами, мало чем отличались друг от друга. Пуск на сусловой культуре более рентабелен.

5. При пуске новых уксусообразователей необходимо производить обязательное «спиртование» уксусообразователей, т. е. вводится стерильный затор с 10% спирта перед внесением чистой культуры в уксусообразователь. Предварительное «спиртование» предупреждает местные переокисления, которые могут возникать вследствие недостатка спирта в некоторых местах новых уксусообразователей.

Всесоюзный научно-исследовательский институт консервной промышленности
Москва

Получено 25. VI. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамова-Каюкова Н. И. Селекция уксуснокислых бактерий для производства виноградного уксуса. Микробиология, XIV, 338, 1945.
2. Иерусалимский Н. Д. и Мантейфель А. Я. Условия окислительной работы уксусообразователей. Сб. работ Центр. научно-иссл. лаборатории бродильной промышленности. Пищепромиздат, стр. 34 М.-Л., 1940.
3. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд. АН СССР, М.—Л., 1949.
4. Мантейфель А. Я., Иерусалимский Н. Д. и Нарожная Е. С. Повышение производительности действующего уксусного завода путем внедрения культурных рас бактерий и рационализации технологического режима. Сб. работ Центр. научно-иссл. лаборатории бродильной промышленности, Пищепромиздат, стр. 57, М.—Л., 1940.
5. Мантейфель А. Я., Зыкова К. И. и Дульман Т. М. Выделение и изучение штаммов уксуснокислых бактерий. Сб. работ Центр. научно-иссл. лаборатории бродильной промышленности, Пищепромиздат, стр. 20, М.—Л., 1940.
6. Мантейфель А. Я. Применение чистых культур уксуснокислых бактерий. Микробиология, VIII, вып. 3—4, 1939.
7. Работнова И. Л. Влияние внешних условий на уксуснокислое брожение. Микробиология, XIII, стр. 1, 1944.
8. Ротмистров М. Н. Изучение микрофлоры окислителей Харьковского уксусного завода. Харьков, 1936.
9. Шапошников В. Н., Дульман Т. М., Бехтерева М. Н. Пуск уксусного завода в Казани на культуре Bact. curvum. Сб. работ Центр. научно-иссл. лаборатории бродильной промышленности. Пищепромиздат, стр. 24, М.—Л., 1940.
10. Шапошников В. Н. Техническая микробиология. Изд. Совет. наука, стр. 176. Москва, 1947.
11. Henneberg W. Handbuch der Gärungsbakterien, 2, Berlin, 1925.
12. Wüstenfeld H. Lehrbuch der Essigfabrikation, Berlin, 1930.

НОВЫЕ МЕТОДЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ АНАЛИЗА МИКРОФЛОРЫ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

В. М. Богданов

Состав питательных сред должен максимально приближаться к тем условиям, в которых чаще всего протекает жизнедеятельность исследуемых микробов. Применение данного принципа особенно важно в технической микробиологии, где количественный учет микрофлоры имеет большое значение.

Если проанализировать под этим углом зрения методику микробиологических исследований, применяемую в области молочной промышленности, то станет вполне очевидным, что в некоторых разделах она подлежит коренному изменению.

Основной питательной средой, применяемой при учете общего количества бактерий в молоке и молочных продуктах, является мясопептонный агар. Данная среда заимствована из медицинской микробиологии. Если в последней применение мясопептонных сред не вызывает особых возражений, то едва ли можно согласиться с тем, что эта среда будет столь же полноценной и при исследовании микрофлоры молока и молочных продуктов.

Мы знаем, что основной и наиболее важной микрофлорой кисломолочных продуктов, кислосливочного масла и сыров являются молочнокислые бактерии, плохо растущие на средах из мяса.

Наиболее требовательные к составу питательных сред молочнокислые палочки в большинстве своем совсем не растут на мясопептонных средах; те же, которые развиваются на них, образуют очень мелкие колонии.

Менее требовательные молочнокислые стрептококки также дают довольно мелкие колонии (в особенности на средах из мясного экстракта).

Применяя при учете молочнокислых бактерий мясопептонный агар, мы будем получать пониженные результаты (главным образом вследствие недоучета группы молочнокислых палочек). Чтобы улучшить рост молочнокислых бактерий, к мясным средам добавляют углеводы, дрожжевой автолизат и т. д., однако все это не делает среду полноценной.

Более подходящими являются среды, приготовленные из молока. В этом отношении большого внимания заслуживает агар из молочной сыворотки, однако техника его приготовления, применяемая в настоящее время, является совершенно неудовлетворительной. Для приготовления данной среды белки молока свертываются сычужным ферментом (или соляной кислотой) и удаляются. Таким образом, наиболее важная для питания бактерий составная часть среды в основном остается неиспользованной. В результате получается неполноценная питательная среда.

Для повышения питательной ценности среды был предложен перевод белков молока в растворенное состояние путем воздействия фермента пепсина (так называемое «пептонизированное молоко» и «казеиновый пептон»).

Данный принцип приготовления питательных сред безусловно правильный, так как позволяет полнее использовать белки молока.

В опыты были включены следующие питательные среды: 1) мясопептонный агар, 2) агар из молочной сыворотки, 3) агар из пептонизированного молока.

Методика приготовления питательных сред была обычной. Количество растворимых белков в питательной среде определялось по методу формольного титрования, видоизмененному П. Ф. Дьяченко.

Методика определения сводилась к следующему: к 10 мл исследуемой жидкости прибавляют 20 мл дестиллированной воды и 5 капель 2% раствора фенолфталеина и титруют 0,1 *N* NaOH до яркорозового окрашивания. Количество миллилитров щелочи, пошедшее на титрование и умноженное на 10, означает кислотность в градусах Тернера. Затем в эту же пробу добавляют 1 мл продажного формалина, нейтрализованного по фенолфталеину 5% щелочью (до розового окрашивания).

Пробу титруют 0,1 *N* NaOH до первоначальной розовой окраски.

Количество миллилитров щелочи, пошедшее на титрование после добавления формалина и умноженное на 10, дает показание аминного азота в градусах.

Количество растворимых белков в приготовленных нами вариантах питательных сред приведено в табл. 1.

Таблица 1

Количество растворимых белков в питательных средах различного состава

Наименование среды	Перед внесением фермента	Через			
		12 час.	24 часа	48 час.	72 часа
Мясопептонный бульон	18	—	—	—	—
Мясопептонный бульон (по Хоттингеру)	18	110	130	156	170
Молочная сыворотка	10	—	—	—	—
Пептонизированное молоко . . .	12	14	16	18	18

Мы видим, что между мясопептонным бульоном, молочной сывороткой и пептонизированным молоком нет резкой разницы в содержании растворимых белков, однако количество последних резко увеличивается при воздействии на белки мяса фермента панкреатина.

Величина колоний молочнокислых стрептококков на средах из мяса была значительно меньше величины колоний на средах из молочной сыворотки и пептонизированного молока. Молочнокислые палочки на средах из мяса или совсем не давали роста, или образовывали настолько мелкие колонии, что подсчет их невооруженным глазом являлся крайне затруднительным.

Эти данные подтверждают указание о том, что среды из мяса, независимо от способа их приготовления, мало пригодны для культивирования молочнокислых бактерий. Питательные среды из молочной сыворотки и пептонизированного молока дают лучшие результаты. На них растут обе группы молочнокислых бактерий, однако колонии их остаются все же мелкими, вследствие чего подсчет и выделение культур остаются затруднительными.

В целях повышения питательной ценности сред из молока нами был применен гидролиз белков путем внесения фермента панкреатина.

Способ приготовления среды был следующим: к литру пастеризо-

ванного при 85° и охлажденного до 45° обезжиренного молока (обычного или восстановленного из сухого) после установления реакции (pH = 7,4—7,6) добавляют 1 г порошка панкреатина и 5 мл хлороформа. Молоко помещают на 72 часа при 40°; по истечении этого времени гидролизат фильтруют, устанавливают реакцию (pH = 7,0—7,2) и стерилизуют при 1 атм. 10 минут. При приготовлении агара гидролизат разводят 2 раза водопроводной водой.

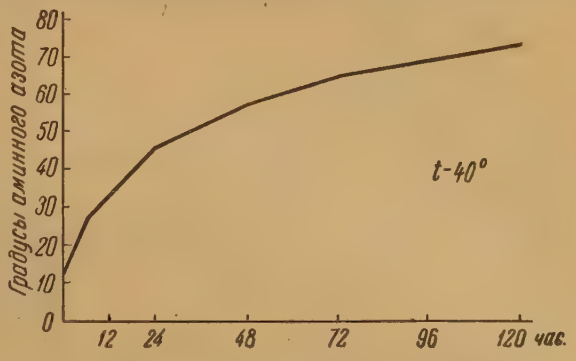


Рис. 1. Кривая распада белков молока под воздействием панкреатина

Фермент панкреатин действует при нейтральной и щелочной реакции. Оптимальная температура его действия находится около 38—40°. Под действием панкреатина белки распадаются сначала на пептоны, которые в дальнейшем превращаются в аминокислоты. Этот процесс протекает постепенно, и различные аминокислоты отщепляются неодинаково скоро. На рис. 1 изображены кривые распада белков молока под воздействием панкреатина.

Приведенные данные показывают, что гидролиз белков наиболее энергично протекает в первый день; в дальнейшем он постепенно замедляется и практически приостанавливается через 72 часа, достигая величины 60—70% аминного азота. Гидролиз белков при 40 и 45° идет приблизительно одинаково. Молочнокислые бактерии прекрасно развиваются на агаре из гидролизованного молока.

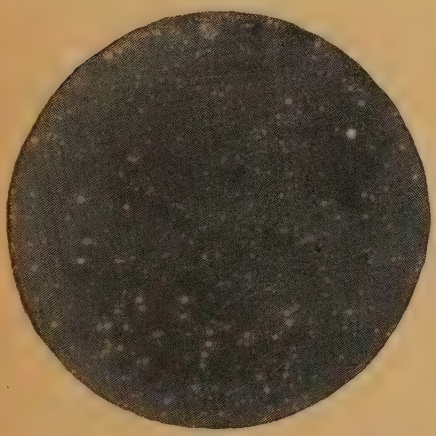


Рис. 2. Рост Str. lactis на агаре из гидролизованного молока

Колонии молочнокислых стрептококков и палочек значительно крупнее сравнительно с другими средами (рис. 2).

Высокая питательная ценность сред из гидролизованного молока подтверждается также кислотностью, образуемой в нем молочнокислыми бактериями (табл. 2).

Многочисленные посевы молока и молочных продуктов на среды из гидролизованного молока указывают на полную пригодность последних не только для учета группы молочнокислых бактерий, но и для учета общей микрофлоры.

Кроме того, гидролизованное молоко может служить основой для приготовления ряда специальных сред.

1. Среда для выделения ароматообразующих бактерий

Методика выделения ароматообразующих бактерий, имеющих большое значение в молочной промышленности, до сих пор является неразработанной.

Таблица 2

Кислотообразование в молочной сыворотке и гидролизованном молоке при развитии Str. lactis и Bact. bulgaricum

Наименование микробов	Питательная среда	Начальная кислотность	Через			
			1 час	24 часа	48 час.	72 часа
Str. lactis	Молочная сыворотка .	10	20	36	42	54
» »	Гидролизованное молоко	10	44	56	88	92
Bact. bulgaricum	Молочная сыворотка .	10	28	48	56	68
» »	Гидролизованное молоко	10	40	74	102	138

В своей практической работе подбора чистых культур молочнокислых бактерий мы применяем следующую методику для выделения ароматообразующих бактерий.

Вследствие незначительного количества их в молочных продуктах предварительно производится посев продукта в обогатительную среду. Для этой цели используется гидролизованное молоко с добавлением 1% лимоннокислого натрия.

Рис. 3. Колонии ароматообразующих бактерий на агаре из гидролизованного молока с лимоннокислым натрием

После выдержки обогатительной среды в течение 18—24 часов при 30° производится высев на агар из гидролизованного молока с добавлением 1% лимоннокислого натрия и 1% сахарозы; последняя добавляется для распознавания Leuconostoc mesenterioides, образующих на средах с сахарозой слизистые колонии.

Ароматообразующие бактерии на среде указанного состава образуют несколько более крупные, чем у Str. lactis колонии. Но главным отличительным признаком, позволяющим безошибочно выделять ароматообразующие бактерии, является наличие пузырьков газа вокруг колоний. Пузырьки газа отчетливо наблюдаются под малым увеличением микроскопа после выдержки чашек с посевами в термостате в течение трех дней (рис. 3).

2. Учет бактерий группы кишечной палочки

При учете данной группы бактерий гидролизованное молоко может быть использовано в качестве основы для приготовления среды Кесслера и Эндо. В первом случае к гидролизованному молоку добавляется генциан-виолет и желчь; для приготовления второй среды добавляется основной фуксин и сернистокислый натрий.

Рост кишечной палочки на модифицированной среде Эндо представлен на рис. 4.

3. Учет молочнокислых бактерий

При учете молочнокислых бактерий очень удобно пользоваться агаром из гидролизованного молока с мелом. Колонии данной группы бактерий отчетливо различаются по зонам просветления, образующимся в результате разложения мела молочной кислотой (рис. 5).

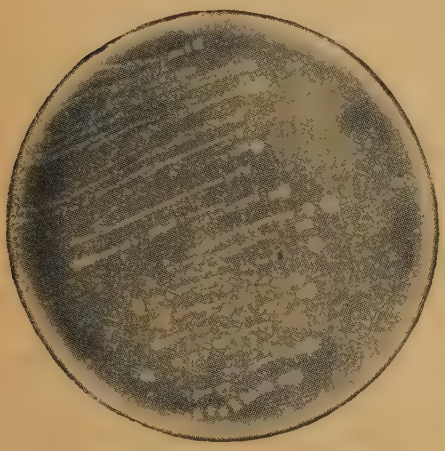


Рис. 4. Колонии Bact. coli на модифицированной среде Эндо

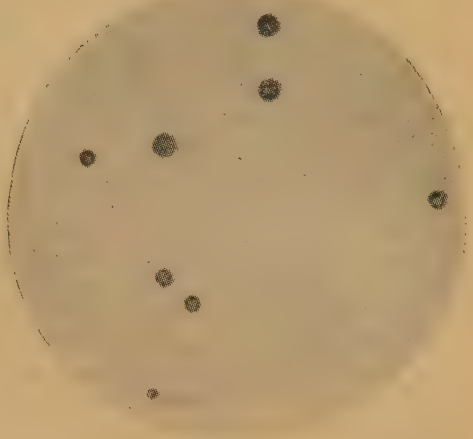


Рис. 5. Колонии молочнокислых бактерий на агаре из гидролизованного молока с мелом

При учете молочнокислых бактерий чашечным методом получаются более точные результаты сравнительно с методом предельных разведений в молоке, дающим большие колебания.

4. Учет разжижающих желатину бактерий и способность сбраживать углеводы

Чтобы устранить молочный сахар, среда с желатиной и среды для углеводов приготовляются не из гидролизованного молока, а из гидролизованного кислотного казеина.

Методика приготовления данной среды сходна с приготовлением гидролизованного молока (берется 100 г казеина на литр водопроводной воды).

Описанная методика приготовления питательных сред из гидролизованного молока применяется нами в течение трех лет при исследовании микрофлоры молока и молочных продуктов.

Положительные результаты применения позволяют нам рекомендовать их для широкого внедрения в практическую работу пищевых лабораторий и лабораторий предприятий молочной промышленности.

Выводы

1. Применение при исследовании микрофлоры молока и молочных продуктов питательных сред, приготовленных из гидролизованного молока, показало значительное преимущество их перед средами из мяса.

2. Среды из гидролизованного молока, помимо хорошего роста на них микроорганизмов, более доступны для приготовления (обезжиренное молоко) и значительно дешевле.

Всесоюзный научно-исследовательский институт молочной промышленности
Москва

Получено 16. IV. 1949

ПИГМЕНТНАЯ СИСТЕМА ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ

(Обзор)

Л. К. Осницкая

Серобактерии являются одной из групп микроорганизмов, участвующих в круговороте серы в природе. В основе их жизнедеятельности лежит процесс окисления H_2S и свободной серы до более окисленных соединений серы с выделением свободной энергии.

По сравнению с другими организмами пурпурные серобактерии представляют особый интерес в связи с их способностью не только к хемосинтезирующим, но и к фотосинтезирующим процессам. Исаченко (1946) считает, что пурпурные бактерии являются переходными формами от хемосинтезирующих к фотосинтезирующим организмам благодаря появлению в клетках пигментов, участвующих в фотосинтезе.

Как показали исследования Исаченко (1914, 1927), серобактерии широко распространены в природе: одни и те же формы встречаются в самых разнообразных местах земного шара и легко приспосабливаются к разным условиям. Так, Исаченко находил одну и ту же форму в водоемах с 1% соли и в водоемах с соленостью в 17° Боме. Настолько же нетребовательны серные бактерии и к температуре: они могут развиваться при температуре +51—70° и сохранять жизнеспособность во льду. Самой северной точкой, где были найдены Исаченко серные бактерии, является Могильное озеро (70° сев. шир.), при температуре воды в озере 6,8°. Местом обитания серных бактерий могут служить серные источники, стоячие воды, почвы, нефтяные лужи. Исаченко (1939, 1946) обнаружил серных бактерий в пластовых водах нефтяных месторождений с глубины 1300—1700 м. Этот удивительный факт обитания пурпурных бактерий на глубине почти 2000 м в пластовых водах древнего возраста, по мнению Исаченко, убеждает нас в том, что развитие пурпурных бактерий началось до кембрия. Высказывания подобного характера были сделаны также Lehner (1937).

Обыкновенно серобактерии делят на две большие группы (Виноградский (1888): бесцветные серобактерии и окрашенные — Thiorhodaceae. Существуют еще пурпурные бактерии, сходные по окраске с Thiorhodaceae, но лишенные серы, развивающиеся в среде с органическим веществом и одновременно адсорбирующие CO_2 на свету. Эти бактерии впервые были описаны Molisch (1907) и названы Athiorhodaceae.

Деление пурпурных бактерий на Thio- и Athiorhodaceae существует в классификации и до сих пор, хотя более углубленное изучение физиологии и морфологии тех и других бактерий несколько стирает грань между ними (Nakamura, 1937; Czurda, 1936; van Niel, 1941, 1944).

Большинство пурпурных бактерий, обладающих фотосинтезирующей деятельностью, накапливается в виде окрашенных масс с цветом, колеблющимся от светлорозового до темнокрасного или коричневого. Van Niel (1941) наблюдал, что цвет многих видов может значительно изменяться в зависимости от условий культивирования. Как яркий пример удивительных изменений цвета культуры он приводит опыт с культурой Thiorhodaceae, выращиваемой в присутствии сульфидов. В ранних стадиях роста культура была светлорозовой, эта окраска наблюдалась до тех пор, пока культура из-за недостатка сульфидов не начала окислять серу, отложенную в клетках, в сульфаты. При этом цвет культуры становится темнокрасным. При добавлении свежих сульфидов уже через несколько часов культура делается светлорозовой и опять накапливает серу в клетках. Некоторые виды бактерий, в анаэробных условиях коричневые, при доступе воздуха превращаются в красные. Наблюдались также такие виды бактерий, которые никогда не образуют красной окраски, изменяясь от темнокоричневого цвета в аэробных условиях до желто-коричневого цвета с зеленоватым оттенком в анаэробных условиях. Можно предположить, что или в описанных случаях происходит возникновение новых пигментов под влиянием изменившихся условий среды, или же, что более вероятно, образовавшиеся в клетках пигменты под действием тех или иных физико-химических факторов изменяются по своему составу а, следовательно, и свойствам.

С точки зрения физиологии наиболее яркой характеристикой фотосинтезирующих пурпурных бактерий является их хорошо развитая пигментная система, сближающая их с зелеными растениями. Любименко в 1921 г. и несколько позднее Исаченко (1927), когда еще о пигментах пурпурных бактерий и ассимиляции ими CO_2 было сравнительно мало известно, высказывали предположение, что между зеленым пигментом пурпурных бактерий и хлорофиллом растений существует генетическая связь и что предшественником хлорофилла, может быть, является зеленый пигмент пурпурных бактерий. Понятен поэтому тот исключительный интерес, который проявлялся исследователями к пигментам пурпурных бактерий. Все ранние исследования по этому вопросу касались главным образом определения спектров поглощения живых или высушенных бактерий или же сырых экстрактов из них.

Перейдем к рассмотрению вкратце наиболее интересных работ того периода.

Ранние исследования пигментов пурпурных бактерий

Спектроскопическое изучение красящего вещества сернопурпурных бактерий было впервые в 1873 г. проведено Ray-Lankester (1873), который выделил из Bact. rubescens пигмент и назвал его «бактериопурпурин». По данным Ray-Lankester этот пигмент имел три полосы поглощения: первую — на линии D, вторую — между линиями E и B, третью — на линии F. Ray-Lankester предполагал, что бактериопурпурин представляет собой весьма сложное вещество и не может быть извлечен в неизмененном виде.

Исследования Ray-Lankester положили начало целому ряду работ по изучению пигментов. Вначале исследователи ограничивались лишь спектроскопическим изучением пигментов. К таким работам относится работа Warming (1875), изучавшего спектр сред, в которых развивались пурпурные бактерии.

Engelmann (1883) исследовал как спектр живых бактерий, так и высушенных, заключенных в канадский бальзам. Engelmann дает для живых бактерий спектр, который в своей первой полосе у линии D совпадает с полосой в спектре Ray-Lankester, вторая полоса сдвинута влево, а третья совсем отсутствует, хотя появляется в спектре высушенных бактерий.

Впервые более глубокое изучение характера и свойств пигментов было проведено русским ученым Виноградским (1888), который установил, что характерной реакцией на бактериопурпурин является действие концентрированной H_2SO_4, вызывающей изменение цвета пленок из красного в буровато-зеленый, и на основании этой реакции отнес бактериопурпурин к липохромам. Кроме того, Виноградский первый обратил внимание на крайнюю неустойчивость бактериопурпурина к окислителям, в то время как в присутствии H_2S пигмент довольно хорошо сохранялся.

В 1890 г. Bütschli получил из спиртовой вытяжки пурпурных бактерий бактериопурпурин. При выпаривании кирпичнокрасного раствора выпадали кристаллы в виде красных ромбиков. Bütschli, подобно Виноградскому, причислял бактериопурпурин к липохромам, сравнивая, в частности, его с жировыми пигментами флагеллят и гематохромом гематококков. Bütschli обратил внимание на то, что после извлечения бактериопурпурина клетки остаются окрашенными в зеленый цвет, который может быть обусловлен наличием в клетках труднее извлекаемого зеленого пигмента, подобного хлорофиллу.

Высказанное Bütschli предположение о наличии в клетках пурпурных бактерий зеленого пигмента в скором времени нашло свое подтверждение и дальнейшее развитие. В 1897 г. Ewart показал, что действи-

тельно в пурпурных бактериях содержится как красный, так и зеленый пигмент, причем зеленый пигмент извлекается спиртом и из спиртового раствора переходит легко в эфир или бензол. Растворы пигмента показывали красную флуоресценцию, исчезающую от действия света и кислорода. Кислоты и щелочи изменяли цвет раствора пигмента на коричневый. Evart высказал предположение, что зеленый пигмент идентичен хлорофиллу.

Таким образом, все более и более выяснялось, что «бактериопурпурин» Ray-Lankester не является единым однородным веществом, а представляет собой соединение, по крайней мере двух пигментов — зеленого и красного.

В 1904 г. русский ученый Арциховский провел блестящие исследования над пигментами пурпурных бактерий. Он применил для извлечения пигментов из культуры сернопурпурных бактерий метод фракционированного воздействия этиловым спиртом разной крепости (от 40 до 95°). При этом оказалось, что зеленый пигмент нацело извлекается даже 40° и 50° спиртом, еще лучше 60° и 80°. Освободившись таким извлечением от зеленого пигмента, Арциховский извлекал 95° спиртом розовый пигмент, который в сероуглероде давал малиновую окраску. Этот пигмент он назвал «бактериоэритрин», оставив название «бактериопурпурин» для комплекса пигментов в смысле Ray-Lankester. Терминология пигментов, предложенная Арциховским, с дополнением Molisch для зеленого пигмента — бактериохлорин, оказалась весьма удачной и применялась почти до настоящего времени, хотя теперь, в свете данных последних работ, эта терминология имеет в сущности историческое значение.

Арциховский получил бактериоэритрин в кристаллическом виде: из сероуглерода в виде друз, из петролейного эфира — в виде ромбов, из спирта — в виде сферитов. Так как кристаллы пигмента изменяли цвет от прибавления крепкой H_2SO_4 на синий, а от иода — на оливковозеленый, то Арциховский отнес бактериоэритрин к липохромам. В CS_2 пигмент имел такие полосы поглощения: 1) λ 580—585, 2) λ 540—515, 3) λ 500—480, от λ 425 — сплошная полоса; спектр живых и высушенных при обыкновенной температуре пленок сернопурпурных бактерий был одинаков: 1) λ 595—579, 2) λ 545—510, 3) λ 505—487, от λ 425 — сплошное поглощение.

Спектр спиртового раствора пигмента: 1) λ 540—512, 2) λ 507—480, иногда отмечалась слабая полоса между λ 460—440.

Так как спектроскопирование 60° и 80° спиртовых растворов все же показывало присутствие в них некоторых количеств бактериоэритрина, в основной массе извлекавшегося лишь 95° спиртом, Арциховский полагал, что он имеет дело со смесью нескольких видоизменений пигмента, из которых часть извлекается уже 60° и 80° спиртом.

Благодаря исследованиям Арциховского полученный им в кристаллическом виде пигмент был так хорошо охарактеризован спектроскопически, что даже через 40 лет возможно было сравнивать вновь открытые пигменты с бактериоэритрином Арциховского.

Тремя годами позднее Molisch (1907) подтвердил наличие у пурпурных бактерий красного и зеленого пигмента. При выпаривании сероуглеродного и хлороформенного растворов выпадали кристаллы от розоватого до коричнево-красного цвета. Этот пигмент Molisch назвал, не считаясь с уже предложенной терминологией Арциховского, бактериопурпурином.

Бактериопурпурин давал три характерные полосы поглощения, причем по спектру поглощения можно было говорить о двух красных пигментах: α-бактериопурпурине со спектром поглощения в CS_2—560 mμ, 527 mμ и 492 mμ и β- бактериопурпурине, выделенном Molisch из Rhodospirillum, полосы поглощения которого несколько сдвинуты в сторону фиолетового конца спектра — 545 mμ, 500 mμ, и 470 mμ. Оба пигмента по своим свойствам сходны с каротиноидами.

Что касается зеленого пигмента, то Molisch полагал, что он, хотя и находится с последним в тесном соотношении, не является хлорофиллом и поэтому дал ему название — бактериохлорин.

В 1921 г. появляется работа Любименко «О пигментной системе пур-

пурных бактерий», в которой впервые вопрос об изучении пигментов пурпурных бактерий ставится в связи с генезисом хлорофиллоносного аппарата растений. Любименко считает вполне допустимым, что пигментная система пурпурных и зеленых бактерий является прообразом фотосинтетического аппарата растений, который появился в результате эволюции пигментного аппарата растительной клетки. Своими экспериментами Любименко прежде всего установил, что в наиболее типичном спектре живых пурпурных бактерий имеются следующие полосы поглощения: 1) λ 600—580, 2) λ 545—530, 3) λ 508—490, 4) λ 470—460. Любименко наблюдал, что у разных видов бактерий в положении полос поглощения могут быть различия.

Такие различия в спектрах поглощения могут зависеть или от перегруппировки хромофорной группы атомов в одном и том же цветном теле, или же в том случае, если пигментная система бактерий неоднородна,— от различных количественных сочетаний цветных веществ, составляющих пигментную систему. На основании наблюдений над свойствами пигментных вытяжек, сделанных с помощью различных растворителей разной крепости, Любименко склоняется к мнению, что бактериопурпурин в смысле Арциховского является единым пигментным комплексом, связанным с белками плазмы и распадающимся на отдельные цветные компоненты под действием растворителей, разрушающих связи пигмента с белком. Русский ученый Цвет (1910) высказывал подобное предположение о пигментной системе зеленых растений. При извлечении пигмент распадается на красное вещество, состоящее из типичного ликопина и ликопиноидов, и синее, не устойчивое к кислороду, быстро изменяющееся в зеленый хлорин и затем в соединение, оптически близкое к хлорофиллу. Тот факт, что бактериопурпурин состоит из ликопина и ликопиноидов, с одной стороны, и вещества, родственного хлорофиллу, с другой,— подтверждает химическую близость пигментной системы пурпурных бактерий и высших растений, и возможность рассматривать пигментную систему пурпурных бактерий как низшую ступень в эволюции хлорофиллоносного аппарата растений становится вполне обоснованной.

Особенное развитие получили исследования пигментной системы пурпурных бактерий после применения для разделения пигментов метода хроматографической адсорбции Цвета (1946). Метод хроматографической адсорбции был разработан русским ученым Цветом еще в 1910 г., но для изучения пигментов был применен значительно позднее. На основании метода хроматографической адсорбции стало возможным разделить и охарактеризовать пигменты, не изменяя сильно их структуру. Начиная с 1934 г., появляются одна за другой работы, в которых сообщается не только об успешно проведенном отделении зеленых пигментов от красных, но и о разделении тех и других на отдельные пигменты. С этих пор исследователи занимаются уже не изучением пигментного комплекса пурпурных бактерий в целом, а изучают строение, химическую природу и физиологическую роль зеленых и красных пигментов в отдельности.

Более удобно рассмотрение этих работ разделить по главам на исследования, касающиеся зеленых пигментов, и исследования, касающиеся красных пигментов пурпурных бактерий.

Зеленый пигмент пурпурных бактерий

Итак, как уже было сообщено выше, в пигментной системе пурпурных бактерий содержится зеленый хлорофиллоподобный компонент (Арциховский, Ewart, Molisch). Еще до установления присутствия в пурпурных бактериях особого зеленого пигмента наличие у этих бактерий пигментной системы заставляло задумываться над ее физиологической ролью в обмене веществ. На основании того, что пурпурные бак-

терии содержат пигменты и развиваются преимущественно на свету, и по аналогии с растениями, также имеющими пигменты, высказывались предположения, что пигментная система пурпурных бактерий участвует в поглощении световой энергии, необходимой организму для осуществления жизненных процессов. Так, Engelmann (1888) произвел фундаментальные исследования отношений между физиологическим действием света различной длины волн и спектром поглощения пурпурных бактерий. Наблюдая за поведением бактерий при освещении их светом различной длины волн, он заметил, что направление движения бактерий управляется светом. Позднее, когда наличие зеленого хлорофиллоподобного пигмента было установлено, а также была установлена способность пурпурных бактерий к усвоению CO_2 (van Niel, 1931, 1935, 1936; Gaffron, 1933, 1934, 1936) внимание к пигментной системе пурпурных бактерий в целом и, в частности, к зеленому пигменту необычайно возросло.

Buder (1919) пытался разрешить вопрос об участии зеленых и красных составных частей пигментной системы пурпурных бактерий в поглощении света инфракрасного спектра. На основании своих наблюдений Buder предположил, что в пурпурных бактериях имеется третий пигмент, который поглощает главным образом в инфракрасной части спектра. Позднее было установлено, что именно зеленый пигмент вызывает характерные линии поглощения в спектре, но в то же время было показано, что положение полос живой клетки и извлеченного пигмента отличаются друг от друга.

Так Wassink (1939) и Katz (1939) сообщают, что спектр спиртовых растворов зеленого пигмента различных чистых культур пурпурных бактерий имеет один лишь максимум поглощения в инфракрасной части 774 mμ, тогда как живые клетки дают два-три отчетливых максимума, причем положение их различно для разных видов.

Thiorhodaceae	Максимум поглощения (в mμ)			
1-я культура	895	855–850		796
2-я »	898	865	804	
Athiorhodaceae				
1-я культура	892–885		850	799
2-я »		880–863	802	
3-я »		875	800	
Спиртовый раствор всех видов				774

Так как максимум поглощения 774 mμ не был обнаружен ни у одной из живых пурпурных бактерий, то Wassink предполагает, что спиртовый раствор содержит «продукты разложения» пигментного комплекса.

Такого же мнения придерживается French (1938), исследования которого показали, что пурпурные бактерии содержат пигмент в форме хромопротеина, разрушающегося при обработке.

Следует напомнить, что впервые этот вопрос был поставлен русским ученым Любименко почти за 20 лет до этих работ. Любименко считал, что бактериопурпурин, тесно связанный с альбуминоидами в протоплазме, под действием растворителей распадается на ряд производных от красного до синего цвета. Аналогичное положение было выдвинуто им для хлорофилла растений, который, по его мнению, существует в растении в виде протеинового комплекса.

Таким образом, наблюдения Buder, Wassink, French подтвердили положение, высказанное Любименко в 1921 г. и в настоящее время не только не опровергнутое, но находящее все более веские подкрепления (van Niel, 1947).

Что касается химической природы бактериохлорина, то она не была установлена до 1934 г. Правда, в 1925 г. Levy провел некоторые исследования над природой зеленого вещества, полученного с помощью экстракции метанолом из пурпурных бактерий, но материал его не позволяет делать какие-либо выводы. Изучение химического строения бактериохлорина было проведено Schneider с сотрудниками (1934).

Извлечение бактериохлорина и красного пигмента производилось из культуры Rhodobacillus palustris (Athiorhodaceae). Для предохранения пигментов от разрушения кислородом воздуха экстрагирование проводилось в бескислородном пространстве. Разделялись пигменты методом хроматографической адсорбции Цвета.

Данные химических анализов показали, что зеленый пигмент представляет собой краску, связанную с несколькими пиррольными группами и обладающую порфириновым ядром, содержащим магний, с общей формулой $C_{55}H_{72}O_6N_4Mg \cdot 1H_2O$.

Ввиду большого сходства зеленого пигмента с хлорофиллом Schneider предложил называть зеленый пигмент бактерий не бактериохлорином, а бактериохлорофиллом. Пользуясь методикой Вильштеттера, Schneider получил ряд продуктов превращения бактериохлорофилла, идентичных таковым хлорофилла. Так как бактериохлорофилл содержит 6 атомов кислорода, то Schneider полагает, что он сходен с растительным хлорофиллом *в*, но не идентичен ему. Наряду с этим, полученным в значительном количестве и хорошо охарактеризованным бактериохлорофиллом *в*, было получено незначительное количество пигмента, несколько отличающегося от бактериохлорофилла *в*. Schneider полагает поэтому, что бактериохлорофилл пурпурных бактерий, так же как и у растений, состоит из двух компонентов *а* и *в*.

Примерно в то же время и независимо от Schneider были проведены исследования химической природы бактериохлорофилла Fischer с сотрудниками (1934, 1937, 1938). Fischer извлекал из 2 000 л культуры Thiocystis violacea приблизительно 2 г сырого пигмента. В результате разрушения бактериохлорофилла Fischer получил ряд продуктов, которые были идентичны продуктам разрушения хлорофилла *а*.

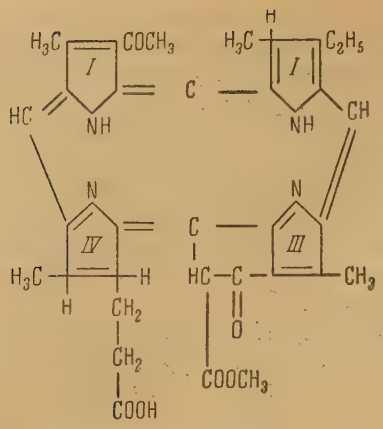
Так, например, полученный из солянокислого экстракта порфирин был спектроскопически сходен с оксофеопорфирином a_5 и оксофиллоэритрином. При расщеплении бактериометилфеофорбида был получен оксофеопорфирин a_5. Обработка бактериохлорофилла или бактериофеофитина хлорофиллазой, полученной из листьев (Fischer допускает возможность наличия хлорофиллазы и у пурпурных бактерий), дает гидролиз молекулы с образованием фитола и бактериофеофитина.

Такое сходство бактериохлорофилла с хлорофиллом *а* привело Fischer к убеждению, что зеленый пигмент правильнее называть бактериохлорофилл *а*, чем *в*. Повышенное по сравнению с хлорофиллом *а* содержание кислорода Fischer объясняет замещением винильной группы хлорофилла на ацетильную группу в бактериохлорофилле. Кроме изучения продуктов распада бактериохлорофилла, Fischer провел синтезы дегидробактериофеофорбида и дегидробактериохлорина из производных хлорофилла *а*, а также опыты, в которых ацетильная группа дегидробактериофеофорбида переходила в винильную группу, т. е. практически превращение его в хлорофилл *а*.

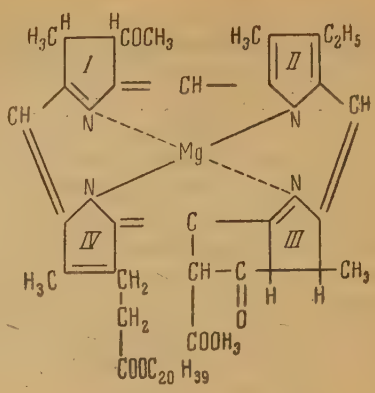
В результате своих исследований Fischer приводит развернутые формулы бактериохлорофилла и дегидробактериофеофорбида (см. схему на стр. 158).

Stern и Pruckner (1940) с помощью изучения полос поглощения подтвердили нахождение в бактериохлорофилле ацетильной группы в том месте, где у хлорофилла *а* находится винильная группа.

Выведенная Fischer развернутая формула бактериохлорофилла признается правильной и по сегодняшний день и, таким образом, бактериохлорофилл можно назвать 2-ацетилдигидрохлорофиллом *а* или же



Дегидробактериофеофорбид



Бактериохлорофилл

магниевой солью фитилового эфира 1, 3, 5, 8-тетраметил-4-этил-2-ацетил-9-оксо-10-карбометокси (3, 4)-дигидрофорбин-7-пропионовой кислоты (Годнев, 1937; Степаненко, 1944, 1947). Под вопросом остается лишь расположение двойных связей. Бактериохлорофилл не обладает оптической активностью. Несмотря на тщательные исследования, Fischer не удалось найти у Thiocystis violaceae второго бактериохлорофилла. Fischer поэтому считает, что найденный Schneider второй бактериохлорофилл представлял собой не постоянную составную часть пигментной системы, а один из продуктов разрушения бактериохлорофилла. Это кажется весьма вероятным, так как Fischer и Wassink отмечали, что бактериохлорофилл очень неустойчив на свету и на воздухе, так что практически очень трудно определять содержание бактериохлорофилла в пурпурных бактериях без частичного разрушения вещества. Хроматографические анализы экстрактов бактериохлорофилла из чистых культур разных видов пурпурных бактерий не показали присутствия второго бактериохлорофилла. Более того, было показано (van Niel, 1938, 1941), что пурпурные бактерии, как Thio-, так и Athiorhodaceae, содержат бактериохлорофилл одного состава. Спектры поглощения спиртовых растворов бактериохлорофилла разных видов пурпурных бактерий совершенно одинаковы (см. выше таблицу, составленную по данным Wassink). Как сообщает van Niel (1938, 1941), препараты бактериофеофорбида, бактериофеофитина и бактериометилфеофорбида, приготовленные из экстрактов бактериохлорофилла у различных пурпурных бактерий, имели одинаковый элементарный состав, температуру плавления, спектр поглощения. Эти данные являются убедительным доказательством того, что различные виды пурпурных бактерий содержат один и тот же зеленый пигмент — бактериохлорофилл.

Что касается разницы в положении максимумов поглощения в инфракрасном районе, показываемой живыми пурпурными бактериями разных видов, то она происходит, согласно взглядам Любименко (1935), вследствие соединения одного и того же бактериохлорофилла с различными протеинами (позднее подобного мнения придерживались French, 1938, и Wassink, 1939). French показал, что спектр поглощения изменяется в зависимости от сочетания бактериохлорофилла с разными протеинами. Он предложил называть комплекс бактериохлорофилла с протеином «фотосинтин».

Изучению хлорофилл-белковых комплексов растений придается серьезнейшее значение, и работы по этому вопросу получили большое развитие среди русских ученых (Годнев, 1937, 1947; Красновский, 1946, 1947, 1948; Степаненко 1944, 1947).

Красные и желтые пигменты

Как зеленый пигмент растений сопровождается желтыми веществами — каротиноидами (типа каротина и ксантофилла), так и бактериохлорофиллу пурпурных бактерий сопутствуют красные и желтые пигменты, известные до 1935 г. под общим названием «бактериоэритрин», которое им дал Арциховский еще в 1904 г. Применение хроматографического метода адсорбции Цвета помогло расшифровать природу красных и желтых пигментов пурпурных бактерий. В 1935 г. van Niel выделил пурпурный пигмент из Spirillum rubrum (Athiorhodaceae) и назвал его на основании происхождения и химических свойств «спириллоксантин».

Для того чтобы детально изучить структуру и свойства спириллоксантина, van Niel выращивал большие количества пурпурных бактерий, исходя из того, что в среднем из 1 л среды получается 1 г сухих бактерий, из которых можно извлечь 0,26 мг пигмента.

Спириллоксантин при кристаллизации из CS_2 выпадал в виде красных листочков пурпурного цвета, похожих на ликопин Любименко. Он легко растворяется в четыреххлористом углероде, хлороформе, дихлорэтане, бензоле, пиридине, метиленхлориде; хуже — в метаноле, этаноле, петролейном эфире и гептане. Спектр поглощения его сходен со спектром бактериоэритрина Арциховского и бактериопурпурина Molisch: в бензоле 545, 506, 479 mμ, в CS_2 569, 531, 501 mμ.

Спириллоксантин очень неустойчив в присутствии кислорода — быстро изменяет свой цвет сначала на коричневый, затем на желтый и, наконец, обесцвечивается. На свету разрушается даже в отсутствие кислорода. Температура плавления 218—219°. Не содержит азота, серы и галогенов. Элементарный анализ дает следующую эмпирическую формулу: C_{48} H_{66} O_3. Определение активного водорода показало наличие одной гидроксильной группы, а эпифазность спириллоксантина, т. е. растворимость в бензольной фазе, указывала на отсутствие карбоксильной группы.

В процессе гидрогенизации было определено 15 двойных связей.

Впоследствии van Niel (1941, 1944) исследовал этот пигмент более подробно и нашел, что спириллоксантин сходен с родовиоласцином, о котором будет речь ниже. Хроматографические и спектрографические наблюдения показали, что Spirillum rubrum содержит еще и другие каротиноиды, но в весьма ничтожных концентрациях, вследствие чего не было возможности определить их.

Изучению красных пигментов пурпурных бактерий посвящены многочисленные работы Karrer с сотрудниками, опубликованные в период с 1935 по 1943 г. (1935, 1936, 1938, 1940, 1943). Karrer в своих исследованиях пользовался методом Цвета для получения индивидуальных пигментов, а извлечение пигментов производил по методу, описанному в руководстве Zeichmeister (1934). Различные представители Thio- и Athiorhodaceae были использованы им в качестве источника для получения пигментов. Karrer удавалось получить из 300 л нормально развившейся культуры пурпурных бактерий до 20—30 мг очищенного пигмента. Из лигроинового раствора пигментов, извлеченных из Thiocystis, вначале был получен только один пигмент в кристаллическом виде. Пигмент этот показал характерную реакцию на каротиноиды и дал полное сходство по максимумам поглощения с ликопином из томатов.

	Спектр поглощения в mμ				
	CS_2		$CHCl_3$		
Пигмент из Thiocistis	547	508	520	486	456
Ликопин из томатов	547	508	520	486	456

Karrer назвал его ликопином. Позднее, когда после работы с представителем Athiorhodaceae — Rhodovibrio, Karrer вновь вернулся к изучению пигментов Thiocystis с бо́льшим количеством культуры (до 1 200 л), он обнаружил, что Thiocystis так же имеет несколько пигмен-

тов, как и Rhodovibrio, и пигменты Thiocystis дают такую же хроматограмму и совпадают по свойствам отдельных пигментов с пигментами Rhodovibrio. Лигроиновая фракция культуры Rhodovibrio на колонке с $Ca(OH)_2$ дала прекрасную хроматограмму, состоящую из 6 полос, из которых соответственно было получено 6 пигментов, которым Karrer дал следующие названия:

Хроматограмма на колонке

Верх	Слои на колонке	Пигмент	Спектр в CS_2 в мμ	
1	Коричневый	Родовибрин	556	517
2	Краснокоричневый	Родопин	547	508
3	Оранжевый	Родовиоласцин	573	534
4	Красный	Родопурпурин	550	511
5	Темножелтый	β-каротин	521	485
6	Светложелтый	Флавородин	502	472

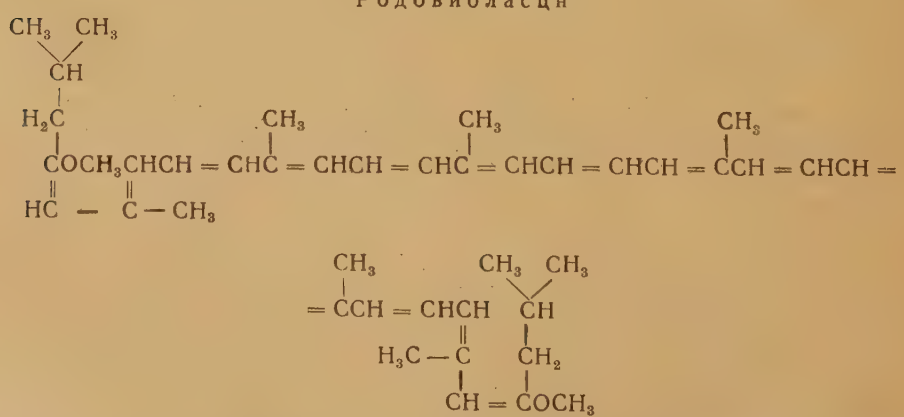
Изучение свойств выделенных пигментов позволило Karrer охарактеризовать их следующим образом.

Родовибрин представляет собой темнокрасные кристаллы, под микроскопом — друзы широких кристаллических иголок и призм, т. пл. 168°, по своим свойствам относится к полиеновым спиртам; эпифазен; не содержит метоксила. Формула общая $C_{40}H_{58}O_6$ или $C_{40}H_{56}O_2$, структура — не выяснена.

Родопин состоит из чернокрасных кристаллов, похожих по форме на кристаллы родовибрина, т. пл. 168°, гидроксилосодержащий пигмент с одной группой OH и 12 двойными связями; эпифазен; C — 82,83%, H — 10,88%. Эмпирическая формула такая же, как и у родовибрина. Как и родовибрин, не содержит метоксила. Вообще родопин так сходен с родовибрином, что разделение их представляет большие затруднения.

Родовиоласцин — кислородсодержащий пигмент, в основной своей массе выпадающий в осадок на холоду из лигроина, образует очень красивые фиолетовые блестящие кристаллы веретенообразной формы с т. пл. 218°, C — 84,15%, H — 10,13%. Имеет 13 двойных, возможно сопряженных, связей и две метоксильные группы (OCH_3); в бензоле дает три максимума 548, 511, 482. Эмпирическая формула $C_{42}H_{60}O_2$. Karrer считает родовиоласцин наиболее характерным пигментом, как Rhodovibrio, так и Thiocystis, и поэтому особенно детально изучал его структурную формулу и несколько раз ее изменял. В 1940 г. после разделения с помощью хроматографии и идентификации производных диальдегидбиксина, получающихся при окислении родовиоласцина, Karrer дает следующий, наиболее вероятный, вариант формулы родовиоласцина.

Родовиоласцин



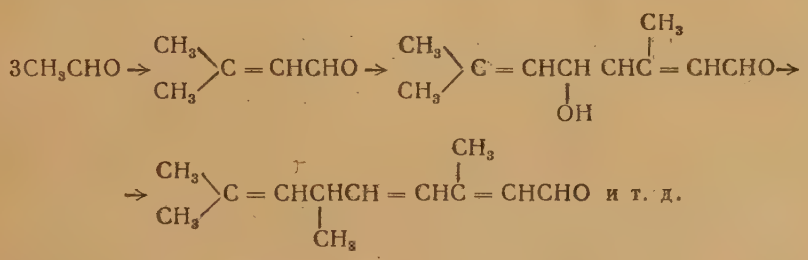
Родопурпурин — эпифазный пигмент, выпадающий из петролейного эфира в виде тонких иголок, иногда друз, с т. пл. 161—162° и двумя максимумами в бензо-

ле — 527 и 490; представляет собой углеводород с эмпирической формулой $C_{40}H_{56}$ или $C_{40}H_{58}$ близкий по спектру к ликопину. Имеет 13 двойных связей. Karrer допускает возможность, что родовиоласцин и родопин являются кислородсодержащими производными родопурпурина, причем кислород содержится не в виде гидроксильной, а в виде кето-группы.

Флавородин представляет собой лимонножелтые кристаллы с т. пл. 111°, углеводород, эпифазен, не полиен, легко растворяется в петролейном эфире, бензоле, хлороформе, ацетоне, имеет большое сходство с сарцинином — пигментом, выделенным из сарцины. Количество флавородина было весьма ничтожно, и обнаруживался он не во всех случаях. То же нужно сказать и о β-каротине, который появлялся не во всех опытах и то в виде следов и потому не мог быть охарактеризован.

В 1943 г. Karrer произвел определения спектров поглощения выделенных из пурпурных бактерий пигментов: родовиоласцина, родопина, флавородина, а также ряда растительных пигментов в гексане и спирте в ультрафиолетовом свете от 4500 до 2500 Å. Оказалось, что в ультрафиолетовом свете спектры поглощения родовиоласцина, родопурпурина и флавородина очень резко различаются между собой и не подчиняются тем зависимостям, которые существуют для видимой части спектра (например, пропорциональность изменения максимума поглощения числу сопряженных двойных связей). Очевидно, что зависимость в ультрафиолетовой части подчиняется каким-то другим более сложным законам.

Что касается вопроса образования каротиноидов, то поскольку культура Rhodovibrio в качестве источников углерода имела аспарагиновую и яблочную кислоты, Karrer предлагает следующую схему образования каротиноидов: вначале в результате дегидрирования аспарагиновой и яблочной кислот образуется ацетальдегид, который затем, путем конденсации с β-метилкротоновым альдегидом, дает каротиноид:



Конечно, нужно заметить, что схема эта очень обща и до сих пор не получено никаких прямых или косвенных доказательств в пользу именно этого или какого-либо другого пути образования пигментов у пурпурных бактерий.

В своих исследованиях Karrer наблюдал, что температура, освещение, состав среды и ряд других условий внешней среды влияют на прирост бактериальной массы, а также и на количество пигментов. Качественный состав пигментов также не всегда был одинаков и, возможно, тоже зависел от условий внешней среды; возможно поэтому, не во всех опытах были обнаружены флавородин и β-каротин. Основными пигментами, создающими окраску бактерий, Karrer считает родовиоласцин и родопин. Ему приходилось наблюдать, что в некоторых случаях пурпурные бактерии содержали один только родовиоласцин без каких-либо примесей. Так, например, это имело место в выделенном им у берегов Африки «красном иле».

Отметим, что Karrer, несмотря на полученные данные о неустойчивости состава пигментной системы одного и того же вида пурпурных бактерий, полагал, что существует сходство каротиноидных частей пигментных систем Thio- и Athiorhodaceae. Этот факт представляет интерес в сопоставлении с данными Fischer и van Niel о том, что у серных и несерных пурпурных бактерий имеется один и тот же бактериохлорофилл, т. е. можно полагать, что пигментные комплексы Thio- и Athiorhodaceae очень сходны или даже идентичны.

Несмотря на, казалось бы, такие тщательные исследования каротиноидной части пигментной системы пурпурных бактерий, в познаниях о ней нет той ясности, кото-

Спектры поглощения красных составных частей пигментов пурпурных бактерий

Пигмент	Температура плавления	Длина волны максимумов поглощения в mμ													Кем выделен
		CS_2			$CHCl_3$			C_6H_6			Этиловый спирт			Петролейный эфир			
Бактериоэритрин	—	570	530	490		—			—		527	—	493	—	—	—	Арциховский
Бактериопурпурин α	—	565	530		540		510		—			—			—		Molisch
Спириллоксантин из Spirillum rubrum	219	569	531	501	540	506	479	545	508	479	529	—	494	526	493	465	van Niel
Родовиоласцин из Rhodovibrio и Thiocystis	218	573	534	496	544	507	476	548	511	482	526	492	465		—		Karrer
Бактериопурпурин β		545	500		520	400									—		Molisch
Бактериоэритрин β		545	505	485											—		Buder
Родопурпурин из Rhodovibrio	161—162	550	511	479	523	487		527	490					502	472		Karrer
Родопин из Rhodovibrio и Thiocystis	171	547	508	478	521	486	453				505	474		501		440	Karrer
Родовибрин из Rhodovibrio	168	556	517														van Niel
Второй пигмент из Rhodospirillum rubrum		551	518	485													
Флавородин	111—113	502	472	441	482	453					472	443		470	442		Karrer

рая существует в отношении зеленой части; сведения о красных пигментах все же недостаточны и спорны

Так, van Niel (1947) утверждает, что выделенный Karrer родовиоласцин идентичен с спириллоксантином: основное расхождение между ними — число двойных связей — van Niel объясняет относительно неточно взятым молекулярным весом, а по другим аналитическим данным оба пигмента совпадают. По мнению van Niel, выделенные Karrer в таком большом числе красные пигменты преждевременно считать отдельными химическими соединениями, так как в сущности только родопин был получен в достаточном для анализа количестве, да и тот не был охарактеризован химически. Кроме того, на примере с родовиоласцином видно, что, даже имея в руках достаточные количества пигмента, не так легко было охарактеризовать его ввиду сложности состава и неустойчивости. Только в 1943 г. Karrer дал окончательную для сегодняшнего дня структуру родовиоласцина.

На стр. 162 приводится составленная van Niel сводная таблица выделенных и описанных различными авторами каротиноидных пигментов с указанием их спектров и температур плавления.

В 1945 г., продолжив свои исследования над спириллоксантином, van Niel (1945) заметил, что спириллоксантин при стоянии даже при комнатной температуре подвержен обратимым цис-транс-изменениям. Если смесь спириллоксантинов хроматографировать, то на хроматограмме вверху откладывается неизмененный спириллоксантин, под ним абсорбируется на колонке главный продукт изменения — оранжево-красный неоспириллоксантин А и еще ниже располагается неоспириллоксантин В. Самопроизвольная изомеризация происходит довольно быстро, как видно из таблицы:

	3 мин.	30 мин.	2 ч. 30 м.	48 час.
Отношение неизмененного спириллоксантина к количеству стереоизомеров	95 : 5	92:8	86 : 14	75 : 25

Данные, приведенные в таблице, показывают, что спириллоксантин очень неустойчив и что количество образовавшихся стереоизомеров, например, 8% за 30 минут достаточно велико, чтобы отразиться на константах исходного вещества. Из нижеприведенной таблицы видно, что спектры поглощения стереоизомеров значительно отличаются как друг от друга, так и от неизмененного спириллоксантина.

	Спектр поглощения					
	Бензол			Петролейный эфир		
Неизмененный спириллоксантин	548,5	510	479	528	493	481
Неоспириллоксантин А .	537,5	499,5	466,5	518	486	445,5
» В . .	528,5	493	466	511	479,5	449,5

Эта интересная работа дает ключ к разъяснению тех противоречий, которые встречались исследователям каротиноидов. Действительно, в свете этих данных легко объясняются сходство, с одной стороны, и некоторые различия, с другой,— между спириллоксантином van Niel и родовиоласцином Karrer или родовибрином и родопурпурином, которые, несмотря на почти полное сходство, обозначаются как разные пигменты, хотя, может быть, они являются одним, но подвергающимся изменениям пигментом. И все то множество красных пигментов, которое открыто у пурпурных бактерий, может быть сведется всего к двум-трем различным пигментам, создающим окраску пурпурных бактерий. Далее van Niel (1947) показал, что Rhodopseudomonas spheroides (Athiorhodaceae) изменяется при действии кислорода на свету в цвете от желто-коричневого до темнокрасного, причем соотношение пигментов желтых к красным, определенное до изменения окраски, равно 2 : 1, а после перехода в темнокрасный цвет равно 1 : 3. Хроматографирование пигментов

показало наличие большого количества стереоизомеров желтых и красных пигментов. Почему происходит такое изменение соотношения желтых и красных пигментов — в силу ли нестойкости желтых пигментов и разрушения их (возможно, с образованием стереоизомеров), т. е. за счет исчезновения желтых пигментов меняется соотношение в пользу красных пигментов или же просто увеличивается количество красных пигментов? Эти и еще целый ряд вопросов встают перед нами и ждут своего разрешения.

Роль пигментов в фотосинтезе пурпурных бактерий и пути их образования

С тех пор как была установлена способность пурпурных бактерий к фотосинтезу и после того как было показано сходство пигментных систем пурпурных бактерий и высших растений, особенно сходных в их зеленой части, интерес к пурпурным бактериям чрезвычайно возрос.

Основываясь на представлении о фотосинтезе как о сопряженном окислительно-восстановительном процессе, van Niel (1936, 1941) таким образом объясняет механизм фотосинтеза у бактерий:

1) пигментная система активируется поглощенным квантом света, в результате чего может явиться донором водорода при восстановлении углекислоты; 2) углекислота восстанавливается темновым путем активированной пигментной системой, а пигментная система окисляется; 3) окисленная пигментная система темновым путем переходит в исходное состояние под действием доноров водорода H_2A (например H_2S).

В настоящей статье нет необходимости останавливаться на тех определениях процесса фотосинтеза растений, которые были предложены за период с открытия фотосинтеза до настоящего времени, так как по данному вопросу имеются прекрасные, весьма полные обзоры и сводки (Любименко, 1935; Красновский, 1946, 1947). Несмотря на то, что открытие фотосинтеза произошло более чем за 100 лет до появления работ Тимирязева, только Тимирязев в 1875 г. раскрыл ту огромную роль, которую играет хлорофилл в этом процессе; он показал, что фотосинтез — это не только процесс усвоения углекислоты, но также и усвоение солнечной энергии, участвующей в разложении углекислоты растением и поглощаемой специально приспособленным пигментом — хлорофиллом (1923).

Хлорофилл, находящийся в пластиде, воспринимает солнечную энергию. Какие же изменения претерпевает он при этом? Этот вопрос разрешался различно. Так, существует гипотеза (Любименко, 1935), что вначале хлорофилл соединяется с углекислотой без изменения хромофорных групп, т. е. происходит химический процесс, за которым следует фотохимический — внутримолекулярная перегруппировка атомов, и переход к более богатому энергией соединению благодаря поглощению света. Тимирязев (1923) предполагал, что хлорофилл подвергается обратному окислительно-восстановительному превращению. По мнению Теренина (1946), органические соединения, в том числе хлорофилл, в результате возбуждения квантом света переходят в длительное бирадикальное возбужденное состояние, вследствие чего возможно превращение световой энергии в химическую. Красновский (1947) получил некоторые данные, указывающие на возможность бирадикального состояния. Он впервые (1948) установил возможность обратимого фотохимического восстановления хлорофилла и участие этой активной восстановленной формы в окислительно-восстановительных реакциях, связанных с переносом водорода.

Хотя и существуют еще некоторые разногласия по поводу того состояния, в котором пребывает хлорофилл в процессе фотосинтеза, но роль его для фотосинтеза очевидна и велика. Хлорофилл, находясь в

комплексе с белково-липоидной пластидой, улавливает солнечную энергию и переводит ее в энергию химическую, необходимую организму для проведения химических реакций. Несмотря на то, что все эти положения были выведены в основном для хлорофилла растений, ввиду вышеупомянутого сходства процессов фотосинтеза растений и пурпурных бактерий и сходства хлорофилла и бактериохлорофилла можно отвести бактериохлорофиллу в фотосинтезе пурпурных бактерий ту же роль, какую хлорофилл играет в фотосинтезе высших растений.

Как в зеленых частях растений наряду с хлорофиллом всегда встречается каротин и каротиноиды, так и у пурпурных бактерий наряду с бактериохлорофиллом имеются каротиноиды. Что каротиноиды играют существенную и возможно многообразную роль в жизни растительных организмов, признавалось вполне очевидным многими исследователями, но до последнего времени роль их все же была неясна.

Из многочисленных гипотез о роли каротина в растении, например, что каротин является фактором роста, что он предохраняет амилазу от разрушения фиолетово-голубыми лучами (Савинов, 1948) или что желтые пигменты как легко окисляемые вещества служат защитой для хлорофилла в процессе фотосинтеза (Ивановский, 1913), остановимся на гипотезе об активном участии каротиноидов в процессе фотосинтеза. Так, Сапожников (1937) полагает, что у высших зеленых растений световая реакция состоит в фоторедукции угольной кислоты с одновременным превращением каротина в ксантофилл. Он показал, что добавление каротина в среду с серными пурпурными бактериями при истощении источников H_2S вызывает увеличение фотосинтетической деятельности наряду с переходом каротина в ксантофилл.

Однако, по мнению Савинова (1948), природа окислительно-восстановительных реакций в процессе фотосинтеза является более сложной, чем это представляется, и хотя несомненно, что каротиноиды принимают определенное участие в этих реакциях, но сомнительно, чтобы участие их выражалось в переносе кислорода по реакции каротин-ксантофилл.

Таким образом, до последнего времени значение каротиноидов — этих непременных компонентов пигментной системы растительной клетки — было неясно. В настоящее время получены некоторые данные, свидетельствующие об участии каротиноидов в процессе фотосинтеза. Ранее считали, что каротиноиды фотохимически неактивны и что фотосенсибилизатором является лишь хлорофилл. Однако Dutton и Manning (1941, 1943) изучали с помощью полярографического метода квантовый выход фотосинтеза у водоросли Nitzschia closterium, обладающей большим количеством каротиноидов, при различной длине волн и малой интенсивности света, и нашли, что квантовые выходы в спектральных диапазонах, где преобладает поглощение или каротиноидов, или хлорофилла,— практически не различаются между собой. На основании этого авторы заключили, что красно-оранжевые пигменты водорослей, так же как и хлорофилл, обладают фотосинтетической активностью и являются сенсибилизаторами. При этом энергия возбужденной молекулы каротина или непосредственно идет на те реакции, которые проводятся молекулой хлорофилла, или же вначале передается хлорофиллу.

Опыты Dutton и Manning были подтверждены Emerson и Lewis (1942). Последние работали с синезеленой водорослью Chroococcus и получили данные, свидетельствующие об участии каротиноидов в фотохимической стадии фотосинтеза. Опыты с Chlorella pyrenoidosa (1943) также показали, что каротиноиды играют роль сенсибилизаторов в процессе фотосинтеза.

Wassink и Kersten (1946) провели определения спектра поглощения и фотосинтеза в различных частях спектра Chlorella и диатомовых водорослей. Они наблюдали, что свет, поглощаемый фукоксантином водорослей, так же фотосинтетически активен, как и свет, поглощаемый хлорофиллом, и предположили, что фукоксантин связан с фотосинтезом через хлорофилл.

Нахо (1946) определял количество кислорода, образуемого под действием света различной длины волн морскими водорослями (Porphyra

nereocystis и P. naiadum) и пришел к выводу, что морские водоросли используют для фотосинтеза свет, поглощенный фикобилинами.

Norman (1948) измерял спектры поглощения и флуоресценции живых красных водорослей и полученных из них экстрактов и наблюдал, что интенсивность красной флуоресценции значительно выше при возбуждении зеленым светом (область поглощения фикоэритрина), чем при возбуждении красным светом (область поглощения хлорофилла).

Manten (1948) посвятил свою работу изучению проблемы фототаксиса и фотосинтеза у пурпурных бактерий Rhodospirillum rubrum. Автор работал как с живыми клетками, так и с выделенными индивидуальными пигментами. Из каротиноидов были выделены родопин, родопурпурин и спириллоксантин. Оказалось, что спектр действия, определенный по фототаксической реакции бактерий, отличается от спектра поглощения пигментно-протеинового комплекса живых бактерий. Свет, поглощенный бактериохлорофиллом, родопином и родопурпурином, фототаксически активен, тогда как спириллоксантин поглощает свет, фототаксически не активный. Так как возможно, что спектр действия фототаксиса подобен спектру действия фотосинтеза, то Manten полагает, что у пурпурных бактерий часть каротиноидов участвует в фотосинтезе. Красновский (1949) пишет, что имеющиеся данные указывают на возможность использования при фотосинтезе света, поглощенного не только хлорофиллом, но и другими пигментами (фикоэритрин-красных водорослей, фукоксантин-бурых, родопин, родопурпурин Rhodospirillum rubrum).

Красновский (1946) высказывает предположение, что в отдаленные периоды существования земли каротиноиды могли играть большую роль, так как максимум солнечного излучения был сдвинут в коротковолновую часть спектра. В дальнейшем, в связи с изменением положения максимума солнечного света, происходило эволюционное приспособление организма, причем повышался удельный вес хлорофилла, построенного более сложно, чем каротиноиды.

Таким образом, на основании данных перечисленных работ можно допустить, что каротиноиды наряду с хлорофиллом в какой-то степени участвуют в фотосинтезе. Каков удельный вес участия каротиноидов в фотосинтезе, участвуют ли они непосредственно в фотосинтезе или же поглощают энергию и передают ее хлорофиллу,— все эти вопросы требуют своего разрешения.

Что касается механизма образования хлорофилла и каротиноидов в растительных организмах, то, несмотря на большое число работ по этому вопросу, пути образования пигментов еще не вполне ясны. В отношении хлорофилла первые указания находим у Тимирязева (1923), который считал, что предшественником хлорофилла является протофиллин, образующийся в темноте в этиолированных проростках и представляющий собой более восстановленное соединение по сравнению с хлорофиллом, в который протофиллин переходит в процессе окисления.

Позднее Любименко и Монтеверде (цит. по Годневу, 1947) обнаружили в этиолированных проростках протохлорофилл, который по их мнению, являлся стабильной стадией предшественника хлорофилла — хлорофиллина. Красновский (1949) допускает возможность того, что действительно протохлорофилл является не побочным продуктом образования хлорофилла, а предшественником его, или же он фотосенсибилизирует процессе синтеза хлорофилла.

Frank (1946) проследил образование хлорофилла в этиолированных проростках при действии света с различной длиной волны и пришел к выводу, что протохлорофилл предшествует хлорофиллу.

Интереснейшие исследования по этому вопросу проведены Годневым (1947), который еще в 1926 г., исходя из основных положений Тимирязева, предложил в виде гипотезы механизм образования хлорофилла в

растении. Эта гипотеза в результате переработки в течение последующих лет приняла следующий вид. Образующиеся конденсацией муравьиного альдегида и пиррола лейкосоединения окисляются в тетра-оксипорфин, который, теряя 4 молекулы H_2O, дает тетрапирроленинпорфин, вероятно и являющийся предшественником хлорофилла, из которого гидрированием 4 атомами водорода на свету получается хлорофилл, а в темноте при гидрировании 2 атомами водорода — протохлорофилл. Фитол, по мнению Годнева, может образоваться из цепи каротиноидов.

Предложенная схема хотя и представляется вполне возможной, но все же является недоказанной, и вопрос о пути образования хлорофилла не выяснен до конца.

Что касается происхождения каротиноидов, всегда сопутствующих хлорофиллу, то были выдвинуты три гипотезы, пытающиеся разъяснить взаимосвязь между хлорофиллом и каротиноидами (Савинов, 1948): 1) молекула хлорофилла может образоваться из каротиноидной цепи; 2) каротиноиды могут образоваться из фитола, освобождающегося при разложении хлорофилла; 3) хлорофилл и каротины образуются из одного исходного вещества.

Савинов предлагает на основании современных представлений наиболее вероятную схему образования каротина и каротиноидов:

Изопрен или метил-бутадиен → фитол $C_{20}H_{40}O$ → ликопин

Изопрен играет большую роль в образовании многих высокомолекулярных продуктов растительного происхождения. Конденсация 4 молекул изопрена дает фитол. Karrer доказал существование генетической связи между каротиноидами и фитолом. Приведенная схема не исключает возможности внутреннего превращения хлорофилла и каротина через фитол. Маловероятно, что каротиноиды служат основным строительным материалом при образовании фитольной цепочки в молекуле хлорофилла. Образование каротина у микроорганизмов происходит в темноте. Это еще лишний раз подтверждает возможность самостоятельного природного синтеза каротина вне зависимости от хлорофилла и от света.

Таковы, вкратце, наши познания по вопросу о пигментной структуре растительной клетки на сегодняшний день. Сходство пигментных систем пурпурных бактерий и зеленых растений, способность и тех и других к фотосинтезу позволяют нам при изучении их проводить некоторую параллель между ними.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 15. I. 1950

ЛИТЕРАТУРА

1. Арциховский В. М. К вопросу о бактериопурпурине. Изв. СПб. бот. сада. 4. 1904.
2. Виноградский С. Н. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. Heft I, Schwefelbakterien. 1888.
3. Годнев Т. Н. О бактериохлорофилле и сопровождающих желтых пигментах. Микробиология, VI, 315, 1937.
4. Годнев Т. Н. Строение хлорофилла и возможные пути его образования в растении. Сб. 7-е Тимирязевское чтение АН СССР. 1947.
5. Годнев Т. Н. и Осипова О. П. О природе связи хлорофилла и белка в хлоропластах. ДАН СССР, т. LVII, № 2, 161, 1947.
6. Иванов Л. А. История создания учения о фотосинтезе. Изв. АН СССР, № 3, 1947.
7. Ивановский Д. О. О физическом состоянии хлорофилла в живых клетках, 1913
8. Исаченко Б. Л. Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана. Гл. бот. сад, СПб, 1914.

9. Исаченко Б. Л. Биологические наблюдения над серными бактериями. Юбил. сб., посвящ. Бородину, 1927.
10. Исаченко Б. Л. Пурпурные бактерии с нижних границ биосферы. Сб. Президиум АН СССР. Комарову, В. Л. 1939.
11. Исаченко Б. Л. Серобактерии из нефтяных скважин. 1. Пигментообразование в отсутствие света на органических средах. Микробиология, XV, вып. 6, 1946.
12. Красновский А. А. Современные представления о фотосинтезе. Усп. совр. биологии, XXI, вып. 2, 1946.
13. Красновский А. А. О фотохимии фотосинтеза. Изв. АН СССР, Серия биол., № 3, 1947.
14. Красновский А. А. Обратимое фотохимическое восстановление хлорофилла аскорбиновой кислотой. ДАН СССР, LX, 421, 1948.
15. Красновский А. А. Фотосенсибилизированные хлорофиллом и фталоцианином магния окислительно-восстановительные реакции, идущие с увеличением свободной энергии системы. ДАН СССР, LXI, 91, 1948.
16. Любименко В. Н. О пигментной системе пурпурных бактерий. Журн. Русск бот. об-ва, 6, 107, 1921.
17. Любименко В. Н. Фотосинтез и хемосинтез в растительном мире. 1935.
18. Ничипорович А. А. О фотосинтезе у растений. 1948.
19. Савинов Б. Г. Каротин. 1948.
20. Сапожников Д. И. Превращение каротина в ксантофилл при фоторедукции угольной кислоты. Биохимия, II, вып. 5, 790, 1937.
21. Степаненко Б. Н. Химия хлорофилла. Успехи химии, XIII, вып. 6, 462, 1944.
22. Степаненко Б. Н. Современные представления о химическом строении хлорофилла. Изв. АН СССР, Сер. биол., № 3, 1947.
23. Теренин А. Н. Фотохимия красителей, 1947.
24. Тимирязев К. А. Солнце, жизнь и хлорофилл. 1923.
25. Фотосинтез растений. Сборник, вып. 1, 1949.
26. Цвет М. Хромофиллы в растительном и животном мире. Варшава. 1910.
27. Цвет М. Хроматографический адсорбционный анализ. Изд. АН СССР, Москва, 1946.
28. Buder J. Zur Biologie des Bakteriopurpurins und der Purpurbakterien. Jahrb. wiss. Bot., 58, 525, 1919.
29 Bütschli O. Über den Bau der Bakterien. Leipzig, 1890.
30. Czurda V. Nachweiss der Sauerstoffabscheidung im Assimilationsprocess der Thiorhodaceen. Arch. Mikr., 7, 110, 1936.
31. Czurda V. und Maresh E. Beiträge zur Kenntniss der Athiorhodobakteriengesellschaften. Arch. Mikrob., 8, 99, 1937.
32. Dutton H. and Manning W. Evidence for carotinoid sensitized photosynthesis in the diatom Nitzschia closterium. Am. J. Bot., 28, 516, 1941.
33. Dutton H., Manning W. and Duggar B. Chlorophill fluorescence and energy transfer in the diatom Nitzschia closterium. J. Phys. Chem., 47, 308, 1943.
34. Emerson R. and Lewis C. M. The photosynthetic efficiency of phyocyanin in Chroococcus and the problem of carotenoid participation in photosynthesis. J. Gen. Phys., 25, 579, 1942.
35. Emerson R. and Lewis C. The dependence of the quantum yield of Chlorella photosynthesis on wave length of light. Am. J. Bot., 30, 165, 1943.
36. Engelmann Th. W. Bacterium photometricum. Ein Beitrag zur vergleichenden Physiologie des Licht- und Farbensinnes. Flügers Arch. Ges. Physiol., 30, 95, 1883.
37. Engelmann Th. W. Die Purpurbakterien und ihre Beziehung zum Licht. Bot. Z. No. 42, 43, 44, 45, 1888.
38. Ewart A. Y. Bacteria with assimilatory pigments found in the tropics. Ann. Botany, 11, 486, 1897.
39. Fischer H., Riedmair J. und Hasenkamp J. Über oxo-porphyrine: ein Beitrag zur Kenntniss der Feinstruktur von Chlorophyll *a*. Ann. Chem., 508, 224, 1934.
40. Fischer H. und Lambrecht K. Über Bakteriochlorophyll Hoppe. Seyel, Z. Phys. Chem., 249, H. 3, 1937.
41. Fischer H., Lambrecht R. und Mittenzwei H. Über Bakteriochlorophyll. Z. phys. Chem., 253, 1, 1938.
42. Fischer H., Mittenzwei H. und Hever D. B. Über Führung von Dehydrobacterio-Phäophorbid *a* in Chlorophyll *a*. Ann. Chem., 545, 154, 1940.
43. Frank S. R. The effectiveness of the spectrum in chlorophyll formation. J. Gen. Phys., 29, 3, 157, 1946.
44. French C. S. The chromoproteins of photosynthetic purple bacteria. Science, 88, No. 2272, p. 60, 1938.
45. French C. S. The pigment-protein compound in the photosynthetic bacteria. I. The extraction and properties of photosynthin. J. Gen. Phys., 23, 469, 1940.
46. French C. S. The pigment-protein compound in the photosynthetic bacteria. J. Gen. Phys., 23, 489—494, 1940.
47. Gaffron H. Über den Stoffwechsel der schwefelfreien Purpurbakterien. I, Bioch. Z., 260, 1933.

48. Gaffron H. Über den Stoffwechsel der schwefelfreien Purpurbakterien. II. Bioch. Z., 275, 1934.
49. Gaffron H. Über die Kohlensäureassimilation der roten Schwefelbakterien. I. Bioch. Z. 269, 1934, II. Bioch. Z., 279, 1935.
50. Haxo F. and Blinks L. R. Photosynthetic action spectra in red algae. Am. J. Bot., 33, No 10, 836, 1946.
51. Hutner S. H. Unidentified trace element requirements of photosynthetic purple bacteria. J. Bact., 51, No. 5, p. 575, 1946.
52. Karrer P. Über einige natürlichvorkommende biochemischbemerkenswerte Pigmente. Helv. Chim. Acta, 19, Fasc. extraord., S. 33, 1936.
53. Karrer P. und Koenig H. Carotinoide der Purpurbakterien. V. Über Rhodoviolascin. Helv. Chim. Acta, 18, Fasc. 1—3, S. 460, 1940.
54. Karrer P. und Solmssen U. Zur Kenntniss der Oxydationsprodukte der Carotine. Das Carotinoide der Thiocystis Bakterien. Helv. Chim. Acta, 18, Fasc. prim., p. 25, 1935.
55. Karrer P. und Solmssen U. Die Carotinoide der Purpurbakterien. I. Helv. Chim. Acta, 18, S. 1306, 1935.
56. Karrer P. und Solmssen U. Die Carotinoide der Purpurbakterien. II. Über Rhodoviolascin. Helv. Chim. Acta. Fasc. prim., 1—3, S, 3, 1935.
57. Karrer P. und Solmssen U. Carotinoide aus Purpurbakterien. III. Helv. Chim. Acta, 19, Fasc. 4—6, S. 1019, 1936.
58. Karrer P. Solmssen U. und Koenig H. Carotinoide aus Purpurbakterien. IV. Helv. Chim. Acta, 18, Fasc. III, S. 454, 1938.
59. Katz E. and Wassink E. C. Infra-red absorptionsspectra of chlorophyllous pigments in living cells and in extracellular states. Enzymologia, VII, Fasc. 2—4, p. 97, 1939.
60. Karrer P. und Würgler E. Absorptionsspektren einiger Carotinoide. Helv. Chim. Acta. 26, Fasc. prim. S. 116, 1943.
61. Lehner A. Zur Physiologie der Purpurbakterien. Ctbl. Bakt., II, 1937.
62. Levy R., Teisser G. et Wurmser R. Etude des pigments d'une bactériacée sulfureuse. Ann. Phys. Physicochim., Biol., I, 298—311. 1925.
63. Manten A. Phototaxis in the purple bacterium Rhodospirillum rubrum and the relation between phototaxis and photosynthesis. Ant. Leeuwenhoek J. Microb. und Serol., 14, No. 2, 65, 1948.
64. Molisch H. Die Purpurbakterien, 1907.
65. Nakamura H. Über die Photosynthese bei der Schwefelfreien Purpurbakterie. Rhodobacillus palustris. Beiträge zur Stoffwechselphysiologie der Purpurbakterien. I. Acta Phytochim., IX, No. 2, 1937.
66. Norman R. W., French C. S., Macdowall F. D. The absorption und fluorescens spectra of two red marine algae. Plant Physiol., 23, No. 4, 455, 1948.
67. Polgar A., van Niel C. B. and Zechmeister L. II. Studies on the pigments of the purple bacteria. Arch. Bioch. 5, 243, 1945.
68. Ray-Lankester E. On a peach-coloured bacterium — Bacterium rubescens Quart. Journ. Micr. Sc., 13, New Ser., 1873.
69. Schneider E. Beiträge zur Physiologie der Farbstoffe der Purpurbakterien. I. Mitt. Die Reinkulturen der Rhodobacillus palustris Molisch und die Gewinnung seiner Pigmente. Chem. Z., II, No. 22—26, S. 3635, 1934.
70. Schneider E. Beiträge zur Physiologie der Farbstoffe der Purpurbakterien. II. Mitt. Über das Bakteriochlorophyll der Purpurbakterien. Chem. Z., II, S. 3625, 1934.
71. Schneider E. Über das Bakteriochlorophyll der Purpurbakterien. Z. phys. Chem., 226, 221, 1934.
72. Schneider E. Über chlorophyllartige Farbstoffe bei den Purpurbakterien. Ber. Deut. Botan. Ges., 52, 96, 1934.
73. Stern A. und Pruckner F. Lichtabsorption einiger Derivate des Bakteriochlorophylls. Z. phys. Chem., Abt. A., 185, 141, 1940.
74. van Niel C. B On the morphology and physiology of the purple and green bacteria. Arch. Mikr., 3, No. 1, 1931.
75. van Niel C. B. Photosynthesis of bacteria Cold spring harbor symposia on quantitative biology, III, 1935.
76. van Niel C. B. Studies on the pigment of purple bacteria. I. Arch. Mikr., 7, No. 3, 1936.
77. van Niel C. B. The bacterial photosynthesis and their importance for the problem of photosynthesis. Adv. in Enzymol., 1941.
78. van Niel C. B. The culture, general physiology, morphology and classification of the non-sulfur purple and brown bacteria. Bact. Rev., 8, No. 1, 1944.
79. van Niel C. B. Studies on the pigments of the purple bacteria. III. The yellow and red pigments of Rhodopseudomonas spheroides. Ant. v. Leeuwenhoek. J. Mikrob. and Serol., 12, No 1—4, 156, 1947.
80. van Niel C. B. and Arnold W. The quantitative estimation of bacteriochlorophyll. Enzymologia. V. Fasc, 4, 1938.
81. van Niel C. B. and Smith Y. H. Studies on the pigments of the purple

bacteria. I. On spirilloxantin a compound of the pigment complex. Arch. Mikr., 6, 219, 1935.
82. Warming E. Observations sur quelques Bactéries qui se rencontrent sur les côtes du Danemark. Vid. Med. fre der nat. For. 1875, No. 20—28.
83. Wassink E. C., Katz E. and Dorrestein K. Infra-red absorption spectra of various strains of purple bacteria. Enzymologia, VII, 2—4, p. 113, 1939.
84. Wassink E. C., Kersten I. A. Observations sur le spectre d'adsorption et sur le rôle des carotinoides dans la photosynthèse des diatomées. Enzymologia, 12, f. I, p. 3, 1946.
85. Zechmeister L. Carotinoide. 1934.

МАТЕРИАЛЫ ПО ИСТОРИИ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В РОССИИ

П. А. КОСТЫЧЕВ И СОЗДАНИЕ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

(Очерк первый)

Д. М. Новогрудский

Среди деятелей, имена которых составляют славу русской науки, мы особенно гордимся новаторами, открывшими своими трудами новые области научных исследований и их практические приложения. Таким ученым новатором был Павел Андреевич Костычев. Он был создателем русской почвенной микробиологии. Более того, он был одним из основоположников почвенной микробиологии вообще. Эта сторона деятельности Костычева почти совсем не освещена. Пусть настоящие строки в какой-либо мере заполнят этот пробел и явятся данью уважения памяти выдающегося ученого, признанием неизмеримых его заслуг перед почвенной микробиологией.

I

Почвенная микробиология оформилась как научная дисциплина в конце прошлого столетия. В то время когда медицинская микробиология уже изумляла мир великими открытиями в области этиологии и профилактики инфекционных заболеваний, почвенная микробиология только зарождалась.

Отдельные исследования почвенных микроорганизмов производились и в до-пастеровский период. Так, Ehrenberg [21], автор монографий по инфузориям и по микрогеологии, исследовал наряду с различными другими объектами и ряд почв. В частности, он исследовал некоторые образцы, собранные Дарвиным во время его путешествия на «Бигле». В образцах «красной земли» им были обнаружены 8 видов пресноводных и 1 вид морских инфузорий; в отношениий «белого осадочного пласта из Патагонии», Эренберг установил, что он в значительной мере состоит из микроорганизмов. В работе Эйхвальда [20] имеется указание, что им послан образец русского чернозема Эренбергу. Последний при микроскопическом анализе этого чернозема нашел в нем 8 видов Polygastrica и 21 вид Phytolitharia. На основании этого анализа Эренберг признал чернозем «лесной почвой» [1]. Микроскопическим изучением организованных остатков в черноземе занимался и русский исследователь Романовский [12], а в подзолах Крылов [10].

Все эти исследования носили эпизодический характер и не шли далее простого описания находимых в почвах микроскопических организмов. Поэтому существенного значения для развития почвенной микробиологии, в современном ее понимании, они не могли иметь.

Небольшое значение для развития почвенной микробиологии имели и первые санитарно-бактериологические исследования почв, возникшие уже в после-пастеровский период, в 70-х и 80-х годах прошлого столетия [1].

---

[1] Уже в 1879 г. Силич [14] производит микроскопические исследования микроорганизмов в почвах окрестностей Петербурга. Он устанавливает количественное преобладание микроорганизмов в верхних слоях почвы, по сравнению с нижними, и в

Эти исследования возникли не из запросов агрономии, а вследствие необходимости решать санитарно-гигиенические вопросы о распространении и выживаемости патогенных микробов в почвах.

Однако уже в 70-х годах XIX столетия в агрономических кругах все более утверждаются идеи о специфической роли микроорганизмов в почвенных процессах. Возникновению этих идей способствовало, с одной стороны, разочарование во многих положениях теории почвенного плодородия, созданной Либихом, а с другой — огромная притягательная сила пастеровского учения о брожениях, истинность которого была блестяще подтверждена в многочисленных практических приложениях. Пастер сам не изучал почвенно-микробиологические процессы, но его исследования в области общей микробиологии, и особенно по брожениям, в том числе — по маслянокислому и брожению мочевины,— намечали новые пути исследования процессов, происходящих в почвах.

Идеи о специфическом значении микроорганизмов в почвенных процессах были настолько подготовлены предшествующим развитием науки, что нет ничего удивительного в том, что в семидесятых годах они, хотя и в общей и нередко в мало определенной форме, высказывались независимо друг от друга разными исследователями в разных странах. Но все эти идеи не означали создания почвенной микробиологии. Задача заключалась в том, чтобы применить научный метод Пастера к изучению конкретных почвенных микроорганизмов, обусловливающих определенный тип биохимических почвенных процессов.

Эта задача была осуществлена в начале следующего десятилетия, уже в 80-х годах. Независимо друг от друга во Франции, в России и в Германии, были исследованы первые специфические почвенно-микробиологические процессы и заложены основы современной почвенной микробиологии. В России Костычев с 1882 по 1885 г. проводит обстоятельные исследования по микробиологии гумусообразования и устанавливает обязательное участие в этом процессе почвенных грибов. Вскоре после этого он формулирует учение о регенерации в почве белковых тел и устанавливает ряд практических выводов, касающихся обработки и удобрения почв.

П. А. Костычев является одним из основателей почвенной микробиологии. Он является первым русским почвенным микробиологом и создателем русской почвенной микробиологии.

II

Павел Андреевич Костычев [2] родился в 1845 г. в семье крепостного крестьянина Шацкого уезда Тамбовской губ. Еще мальчиком он своими способностями обращает на себя внимание помещицы, которая определяет его в Московскую земледельческую школу [3].

Отмена крепостного права спасла Костычева от тяжелой участи крепостного агронома. В 1864 г. Костычев сдает экзамены на аттестат зре-

---

почвах более богатых аммиаком и органическими веществами. В 1880 г. Пастер опубликовал ряд наблюдений, устанавливающих наличие палочки сибирской язвы в почве, окружающей могилы животных, павших от этих болезней. В 1881 г. Кох опубликовал новый способ бактериологического исследования почвы, основанный на посеве частичек почвы на разлитую на пластинку питательную желатину. Способ Коха быстро распространился. В 1884 г. Николаер открыл в почве палочку столбняка. В эти же годы под влиянием теории Петенкофера о колебании уровня грунтовых вод как причине эпидемии брюшного тифа и холеры, многие исследователи стремятся обнаружить в почвах возбудителей этих болезней. Из санитарно-бактериологических почвенных исследований, произведенных в этот период в России, заслуживают внимания весьма обстоятельные исследования Смоленского [15], опровергающие упомянутую теорию Петенкофера. Из других русских работ этого периода представляли большой научный интерес работы Клементьева [3], Савицкого [13], Топорова [17].

[2] Биографические данные мы заимствуем из статьи А. Н. Соколовского [15].

[3] Основана в 1822 г. для подготовки «ученых управителей».

лости и поступает в Петербургский земледельческий институт. По окончании Института в 1868 г. Костычев «определен по вольному найму и. д. лаборанта» при лаборатории известного химика А. Н. Энгельгардта. В 1869 г. Костычев оказывается замешанным в один из политических процессов и после тюремного заключения, за невозможностью заниматься дальше педагогической работой, занимает место химика в Пробирной палате. В 1872 г. он возвращается в земледельческий институт, работая сначала в качестве преподавателя, а потом — профессора. В 1881 г. по защите магистерской диссертации на тему «Нерастворимые фосфорные соединения почв» он получает степень магистра сельского хозяйства. С переименованием в 1877 г. Земледельческого института в Лесной упраздняется занимаемая Костычевым кафедра земледелия, превратившаяся в доцентуру по земледелию, а позже (1881) — по почвоведению. В то же время он читает курс почвоведения в Петербургском университете. Блестящая научно-педагогическая деятельность Костычева рано была прервана вследствие его перехода на административную работу. С 1885 г. Костычев состоит членом ученого комитета Министерства государственных имуществ, а затем инспектором сельского хозяйства при Министерстве земледелия, а за $1^1/_2$ года до смерти — директором департамента земледелия этого министерства. Костычев умер в 1895 году.

Микробиологические методы исследования Костычев изучил в Париже у Пастера, куда он был командирован в 1882 году[4]. Он в совершенстве овладел техникой бактериологических исследований, что видно, между прочим, из сделанного им 16 декабря 1882 г. сообщения в ботаническом отделении С. Петербургского общества естествоиспытателей. В протоколах этого заседания отмечено: «П. А. Костычев сделал сообщение о новейших исследованиях над бактериями, производящими различные болезни, причем демонстрировал под микроскопом бактерии бугорчатки» [11]. Надо учесть, что это сообщение Костычева было сделано в тот же год, когда было опубликовано открытие возбудителя туберкулеза, чтобы понять, как напряженно Костычев следил за новейшими достижениями микробиологии. Неизменный интерес его к этой науке проявился и в том, что он был вместе с проф. Хр. Гоби первым переводчиком на русский язык монографии Цопфа о бактериях [19].

В 1882 г., когда Костычев находился в Пастеровском институте в Париже, почвенной микробиологии еще не существовало. Возвратившись в Россию, Костычев тут же начинает сам налаживать почвенно-микробиологические исследования и притом по центральному вопросу почвенной микробиологии — об образовании почвенного перегноя. В этих первых почвенно-микробиологических исследованиях уже во всей полноте проявились те черты Костычева, как ученого, которые в свое время Сибирцев характеризовал следующими словами. «По складу своего мышления и по направлению своих работ это был тонкий, остроумный, настойчивый и последовательный аналитик. Изучить явление от начала до конца, от корня до последних разветвлений, не оставить без рассмотрения ни одной детали, исследовать шаг за шагом все нити и изгибы вопроса, всюду применяя строго выдержанные методы меры и веса,— вот задачи, которые ставил себе Костычев и которые выполнялись им с неизменно сосредоточенным вниманием и соответствующим успехом».— «По многогранности своих знаний Костычев занимал особое, выдающееся положение среди русских почвоведов; опытный химик (как теоретик, так и практик), он был в то же время микробиологом, геоботаником и агрономом» [13а].

Эти черты тонкого, глубокого и образованного исследователя в пол-

[4] По заданию Главного управления государственного коннозаводства для изучения вопроса о предохранительных прививках против чумы и сибирской язвы.

ПОЧВЫ
ЧЕРНОЗЕМНОЙ ОБЛАСТИ
РОССІИ,

ИХЪ ПРОИСХОЖДЕНІЕ, СОСТАВЪ И СВОЙСТВА.

Часть I.

ОБРАЗОВАНІЕ ЧЕРНОЗЕМА.

П. Костычева.

С. ПЕТЕРБУРГЪ.
Изданіе А. Ф. Девріена.
1886.

ОБРАЗОВАНІЕ И СВОЙСТВА ПЕРЕГНОЯ.

П. А. Костычева.

(Статья первая).

I.

Изслѣдованіе условій разложенія растительныхъ органическихъ веществъ, безъ сомнѣнія, представляетъ одно изъ важнѣйшихъ средствъ для разъясненія того, какимъ образомъ накопляются органическія вещества въ почвахъ; тѣ же изслѣдованія могутъ дать весьма цѣнныя свѣдѣнія и о свойствахъ перегноя почвы, представляющаго продуктъ разложенія растительныхъ остатковъ.

Въ своей книгѣ «Почвы черноземной области Россіи» я опубликовалъ изслѣдованія надъ быстротою разложенія различныхъ растительныхъ остатковъ при разныхъ условіяхъ, и кромѣ того показалъ, что перегнойныя вещества темнаго цвѣта получаются только въ тѣхъ случаяхъ, когда на гніющемъ веществѣ поселяются грибы; подъ вліяніемъ однѣхъ бактерій бурыя или черныя вещества не получаются.

Въ настоящее время я имѣю возможность представить результаты дальнѣйшихъ изслѣдованій, произведенныхъ въ моей лабораторіи надъ различными вопросами относительно процессовъ разложенія разныхъ растительныхъ остатковъ при полномъ доступѣ воздуха.

Судьба азотистыхъ соединеній разлагающихся растеній представляетъ одинъ изъ интереснѣйшихъ предметовъ, уже не разъ изслѣдованный съ разныхъ сторонъ, и тѣмъ не менѣе до сихъ поръ еще весьма мало разъясненный. Мои изслѣдованія, между

ном блеске проявились в микробиологических исследованиях Костычева, к изложению которых мы переходим.

III

Уже в первых своих исследованиях Костычев поставил перед собою большую и сложную задачу — выяснить микробиологические процессы, происходящие при превращении растительных остатков в почвенный перегной. Исследования по этим вопросам, проводившиеся до 1885 г. вошли в главу IV знаменитого труда Костычева об образовании чернозема [4]. Уже на основании внешних наблюдений над разложением в почве растительных остатков, П. А. Костычев приходит к выводам, свидетельствующим о глубокой его проницательности. Вот как он описывает процесс разложения растительных остатков: «В разных случаях гниение растительных остатков начинается неодинаково. Иногда на гниющем материале поселяются прежде всего бактерии, иногда же появляются раньше грибы. Различные части одного и того же гниющего материала разлагаются различно; в одной части их размножается один организм, рядом — совсем другой». И наконец — самое важное из исходных положений Костычева: «Разные виды разложения последовательно сменяются, соответственно изменению в свойствах разлагающегося вещества».

Программа экспериментальных исследований Костычева была задумана весьма широко. Вот как ее излагает сам автор. «Я предполагал сперва исследовать по возможности действие всех низших организмов, найденных мною в почвах, определивши хотя в общих чертах роль каждого из них».— «Но первые же попытки такого рода показали мне, что работа эта бесконечно обширна, и я ограничился поэтому пока только наблюдениями над изменением внешнего вида разлагающегося вещества». Такая обширная программа не может считаться выполненной и в настоящее время. Естественно, что она оказалась непосильной для одного Костычева.

Основная задача в опытах Костычева заключалась в том, чтобы получить растительные материалы, совершенно свободные от микроорганизмов, и потом проследить их разложение под влиянием различных чистых культур микроорганизмов.

Методика опытов Костычева заключалась в следующем. В заранее стерилизованные колбочки с водой, «заткнутые пыжом из ваты», он асептически вводил кусочки стерильных листьев капусты, корней моркови и репы. Другие растительные вещества, которые не могут быть получены свободными от микроорганизмов (зерна пшеницы, семена гороха, бобов, кукурузы, гречихи, березовые опилки), вносились в колбочки с водою и стерилизовались многократным нагреванием на водяной бане.

Прежде всего Костычев обратил внимание на роль бактерий в разложении растительных остатков. Для этого он выделил из черноземных почв по методу Коха чистые культуры бактерий и заражал ими колбочки со стерильными растительными веществами. Вот, что писал он об этих опытах. «Число отдельных колбочек, употребленных для этого, дошло с течением времени до 150, но все мои опыты были неудачны: все бактерии, полученные из почвы, давали в чистых культурах бесцветные твердые продукты разложения или же продукты, окрашенные в яркие цвета (желтый, красный), но никогда не получалось даже и светло-бурой массы, не говоря уже о еще большем потемнении субстрата».

Неудача этих опытов с чистыми культурами отдельных бактерий приводит Костычева к новому предположению, что темноокрашенные перегнойные вещества образуются не отдельными видами почвенных бактерий, а совместной деятельностью многих видов. Опять ставятся обширные серии колбочек, зараженные «разными смесями бактерий», и опять неудача. «Результат всегда получался тот же, т. е. темных про-

дуктов разложения не было получено ни в одном случае. Произведя многочисленные исследования и в этом направлении, я наконец потерял всякую надежду получить таким путем перегнойные вещества».

Но Костычев не считает вопрос исчерпанным. Он останавливается на новом предположении, что перегнойные вещества образуются из растительных остатков деятельностью анаэробных бактерий. Прежние колбочки оставляются в стороне, и начинается новая серия весьма сложных экспериментов в анаэробных условиях. Результат был тот же: окрашенных в темный цвет продуктов разложения не получалось.

Однако и эти исследования не удовлетворили Костычева. Он обратил внимание на то, что в культурах бактерий на растительных остатках субстрат становится кислым и дальнейшее развитие бактерий прекращается. Поэтому возникла мысль, что быть может малая продолжительность разложения служит причиной того, что при действии бактерий не образуется перегнойных веществ. Чтобы решить этот вопрос Костычев вновь проводит опыты, как в аэробных, так и в анаэробных условиях, но на этот раз в колбочки вводится большой избыток углекислой извести и трехкальциевой фосфорной соли. Конечный результат этих опытов был все такой же: перегнойных веществ не образовывалось.

На этом, казалось бы, исследования Костычева зашли втупик. Но тут пришел на помощь «случай», ибо, как это всегда бывает у выдающихся умов, они предпринимают все, чтобы этот «случай» не упустить. Предоставим слово самому Костычеву.

«Из описанных выше культур не все однако были удачны: в некоторых случаях вместе с бактериями попадали в колбочки грибные споры, из которых потом развивался мицелий. Первая же неудачная культура такого рода сопровождалась замечательно удачным результатом в том отношении, что растительная масса вокруг мицелия окрасилась в темно-бурый, почти черный цвет, и результат этот потом правильно повторялся при большинстве опытов. Бывали случаи, когда разрастание гриба не сопровождалось окрашиванием субстрата, но не было никогда такого случая, чтобы при темном окрашивании субстрата не было грибных нитей».

«Несмотря на то, что исследования мои по этому вопросу пока не окончены, я полагаю, что на основании их с большой вероятностью можно заключить, что при образовании темноцветных продуктов разложения растительных веществ главная, и может быть исключительная, роль принадлежит грибам, и что бактерии едва ли в этом участвуют».

Так было закончено это классическое исследование. Это была первая работа по микробиологии гумуса вообще и первая русская работа по почвенной микробиологии. Костычев открыл новый и неожиданный для того времени факт — роль почвенных грибов в образовании почвенного перегноя. Вместе с этим были получены первые сведения о роли в почвенных процессах обширной группы грибов — микроорганизмов, отличных от бактерий.

IV

До конца своей жизни Костычев продолжает исследования по почвенной микробиологии. Уже через несколько лет после классического труда «Образование чернозема», он публикует исследования о регенерации белков в почве [5], являющееся дальнейшим развитием его первых исследований над ролью почвенных грибов в образовании почвенного перегноя [5].

Учение о регенерации белков возникло из наблюдений над гумусом, которые не могли быть объяснены с точки зрения чисто химических

[5] Название «Учение о регенерации белков» было дано известным физиологом и знатоком почвенной микробиологии Ивановским в его работе [2].

представлений, и даже противоречили таковым. Уже давно было замечено, что в процессе разложения органических остатков содержание азота, определяемого как белковый азот, возрастает, тогда как содержание безазотистых веществ уменьшается. В почвенном перегное содержание азота достигает 4—5%, а в растениях, из которых происходит этот перегной, оно не превышает 1½—2%.

До Костычева исследователи пытались объяснить эти факты допущением, что азот в почвенном перегное находится в виде каких-то особых химически стойких соединений (аналогично азоту углей или хитина). Подобные представления Костычев считает неправильными. Во-первых, потому, что бо́льшая часть азота перегнойных веществ почвы относится к химическим реактивам так же, как азот белковых тел. Во-вторых, потому, что на почвенном перегное поселяются и с поразительной быстротой размножаются насекомые, многоножки и др., единственной азотистой пищей для которых могут быть белки. Таким образом, необходимо допустить, что главная масса азотистых соединений почвенного перегноя представлена белковыми веществами. Но тут возникает новое затруднение. Белковые вещества разлагаются легко и едва ли можно допустить, что безазотистые части растительных остатков быстрее разлагаются, чем азотистые.

Разрешение этих противоречий было найдено Костычевым в переходе от химических представлений к микробиологическим. В почве непрестанно происходит регенерация белковых тел, т. е. обратный переход простейших азотистых соединений в белки живой плазмы почвенных микробов. Повышенное содержание азота в почвенном перегное объясняется тем, что азотистые вещества жадно поглощаются микроорганизмами, тогда как безазотистые разлагаются ими с выделением углекислоты.

Одним из следствий учения о регенерации белков является представление о существовании предела, дальше которого накопление азота в почвенном перегное невозможно. Так как главными разрушителями растительных остатков являются почвенные грибы, то между содержанием азота в перегное и в тканях грибов должно существовать известное соотношение. В подтверждение этой мысли Костычев приводит средние из 47 анализов азота в различных грибах (5,48%) и из 51 анализа азота в перегное (5,26%). «Такое совпадение цифр, ввиду того факта, что перегной образуется под влиянием грибов, едва ли следует считать случайным. Соображения, изложенные ниже, в самом деле с большой вероятностью показывают, что наибольшее возможное содержание азота в перегное есть то содержание этого вещества, какое мы находим в грибах» [6].

Другим также очень важным следствием из учения о регенерации белков в почве было совершенно новое представление о единстве процессов распада и новообразования органических соединений в процессе гумусообразования. «При всяком процессе разложения с участием низших организмов распадение белковых веществ несомненно сопровождается синтезом их».— «Мы должны внести некоторые поправки в наши представления о роли низших организмов в почве; обыкновенно мы представляем их себе, как деятелей разложения, и считаем их образователями питательных веществ для наших культурных и других высших растений. Сообщенные мною факты и соображения показывают, что низшие организмы сами могут потреблять простейшие азотистые соединения для образования из них сложных (белковых) веществ, т. е. в этих случаях они являются конкурентами высших растений и могут представлять существенную помеху для хорошего произрастания последних» [6].

Совершенно очевидно, что эти новые представления имели выдающееся значение для понимания условий питания растений. Но Косты-

чев на этом не остановился, а попытался формулировать условия, при которых в почве идет процесс образования из перегноя простых азотистых соединений, способных служить пищей для высших растений или, наоборот, условий, при которых простые азотистые соединения исчезают из почвы, превращаясь в белковые тела микроорганизмов [6].

«В перегное не может содержаться азота более того, сколько его содержится в живущих на перегное грибах. Когда состав перегноя дойдет до этой нормы, то при его дальнейшем разложении всегда образуется некоторое количество простейших азотистых соединений, которыми могут пользоваться только высшие растения. И наоборот, когда перегной содержит менее 5% азота, высшие растения не найдут в нем азотистой пищи, так как: 1) весь азот заключен в живой плазме грибов, 2) если-бы в грибах происходило разложение белковых веществ, то простейшие продукты этого разложения могли бы служить питательными веществами для грибов и из них, при помощи избытка безазотистых соединений, грибы вновь образовали бы белковые вещества».

Если перевести идеи Костычева на язык современной почвенной микробиологии, можно сказать, что именно Костычев открыл значение отношения C/N на ход микробиологических процессов в почве. При высоких значениях C/N, т. е. при избытке безазотистых веществ, простые азотистые соединения должны исчезать из почвы, регенерируя с максимальной скоростью в плазму микроорганизмов. Наоборот, при низких значениях C/N в почве могут накапливаться простые азотистые соединения [7].

Западноевропейские микробиологи пришли к пониманию этих явлений значительно позже Костычева. Это не помешало, однако, Ваксману (22) приписывать открытие этих закономерностей то Крюгеру и Шнейдевинду, то Пфейферу и Лемерману, то другим. Все это глубоко неверно. Приоритет открытия этих закономерностей принадлежит Костычеву, который формулировал их на 10 лет раньше упомянутых немецких исследователей [8].

V

Характерной особенностью всех почвенно-микробиологических исследований Костычева является то, что микробиология не является в них самоцелью, а ключом к освещению практических вопросов сельского хозяйства. Из своих микробиологических открытий Костычев сделал выводы в отношении таких вопросов, как глубина запашки навоза, способы обращения с соломистой частью навоза, обработка черного пара, практика использования зеленого удобрения. Костычев не смущался тем, что некоторые из его выводов противоречат мнениям западноевропейских авторитетов. Он писал: «В конце концов не что иное, как практика, произносит окончательный приговор по сельскохозяйственным вопросам. Я думаю, однако, что мои соображения противоречат только практике заграничной, приспособленной к иным климатическим и почвенным условиям. Я думаю, что не должно отрицать голословно своего только потому, что оно не соответствует общепризнанным теоретическим

[6] П. А. Костычев является также первым исследователем микробиологических превращений фосфора в почве, для которого он установил такой же процесс регенерации, как для азотистых соединений [7].

[7] Открытые Костычевым закономерные связи между содержанием в перегное безазотистых и азотистых веществ и направлением микробиологических процессов явились основой для создания Костычевым оригинальной гипотезы о физиологической сущности микориз [8].

[8] Шнейдевинду, например, хорошо были известны результаты работ Костычева, и собственные исследования Шнейдевинда имели одной из своих задач проверить правильность выводов русского ученого. Об этом см. Франкфурт [18].

соображениям, но что необходимо сперва обсудить предмет с возможной тщательностью» [9].

Время лучший судья делам и творениям ученых. Труды Костычева выдержали испытание времени. Имя Костычева всенародно признано и поставлено в ряд лучших представителей русской агрономической науки. Идеи П. А. Костычева стали достоянием социалистического сельского хозяйства.

Институт почвоведения
Академии наук КазССР
Алма-Ата

Получено 5. VII. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Еремеев П. Замечания о микроскопических составных частях чернозема в России. Горный журнал, ч. IV, 1852.
2. Ивановский Д. И. Из деятельности микроорганизмов в почве. Тр. имп. вольного экон. об-ва, № 6, 1891.
3. Клементьев. Опыт количественного определения микроорганизмов в кладбищенской почве. Диссертация, 1887.
4. Костычев П. А. Почвы черноземной области России, их происхождение, состав и свойства. I. Образование чернозема. СПб., 1886.
5. Костычев П. А. Образование и свойства перегноя.— Тр. СПб. общ-ва естествоиспытателей, отд. ботаники, 20, 1889.
6. Костычев П. А. О некоторых свойствах и составе перегноя.— Сельское хозяйство и лесоводство, № 10, 1890.
7. Костычев П. А. Об изменениях составных частей почвы, содержащих фосфор. VIII Съезд русских естествоиспытателей и врачей. СПб, 1890.
8. Костычев П. А. Состав органических веществ почв (перегноя) в связи с вопросом в полезности микориц. Тр. СПб. об-ва естествоиспытателей, отд. ботаники, 21, 1891.
9. Костычев П. А. К вопросу об удобрении и обработке черноземных почв. Сб. статей «Обработка и удобрение чернозема». СПб. 1892.
10. Крылов. Подзол Могилевской губернии и происхождение его и растительных биолитов Эренберга вообще. Записки импер. СПб. минерал. об-ва, сер. 11, ч. 8, 1873.
11. Протоколы заседания ботанического отделения 16 декабря 1882 г. Тр. СПб. об-ва естествоиспытателей, 13, вып. 2, 1883.
12. Романовский Г. Несколько слов о русском черноземе. Горный журнал, ч. 1, 1863.
13. Савицкий А. Количественное определение микроорганизмов в почве и их отношение к составу почвенного воздуха. Диссертация, 1889.
13а. Сибирцев Н. М. К годовому дню кончины Павла Андреевича Костычева. Тр. импер. вольного экономич. об-ва, т. 2, кн. 5, 1898.
14. Силич Л. Материалы для вопроса об исследовании почвы города С. Петербурга. СПб, 1879.
15. Смоленский П. О. Бактериологические исследования почвы авангардного лагеря при Красном Селе. Врач, VIII, 1887.
16. Соколовский А. Н. «П. А. Костычев» в изд. П. А. Костычев «Почвы черноземной области России». Москва, 1937.
17. Топоров А. О влиянии физических свойств почвы на количественное содержание в ней микроорганизмов, Диссертация (?).
18. Франкфурт С. Л. О некоторых работах по вопросу о накоплении азота в почвах. Тр. имп. вольного экономического об-ва, т. 2, кн. 6, 1900.
19. Цопф В. Дробянки — бактерии. Перевод с немецкого с согласия автора и со значит. дополн. Хр. Гоби и П. Костычева. СПб, 1884.
20. Эйхвальд Э. Палеонтология России, 1850.
21. Ehrenberg Ch. Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen, 1838. Mikrogeologie, 1854.
22. Waksman S. Principles of soil microbiology, 1932

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Федоров М. В. **Микробиология.** 4-е переработ. и дополн. изд. Сельхозгиз, 1949, стр. 413.

Разбираемое ниже руководство допущено Министерством высшего образования СССР в качестве учебника для высших сельскохозяйственных учебных заведений. Однако отсутствие в настоящее время учебной литературы по общей микробиологии приведет к его использованию и в других вузах, что, без сомнения, учитывал и автор книги.

Общий объем выпущенного учебника 30 учетно-издательских листов. План книги и ее содержание значительно переработаны по сравнению с предыдущим изданием, с момента выхода которого прошло восемь лет. За этот период многие разделы микробиологии как биологической дисциплины были подвергнуты тщательному пересмотру в связи с решениями августовской сессии 1948 г. Всесоюзной сельскохозяйственной академии имени Ленина. Немало было сделано и новых, принципиально важных работ, из числа которых мы можем напомнить, например, широкую постановку вопроса об антибиотических веществах, раскрытие химизма фиксации молекулярного азота, развитие исследований по экологии микроорганизмов почв и т. д.

Учет и обобщение огромного материала, появившегося в литературе, а также его критическая оценка и изложение в доступной форме потребовали значительных усилий. Стоявшие на пути трудности автор, однако с успехом преодолел, и появившаяся книга должна быть оценена как полноценный учебник, в котором испытывает острую нужду большая сеть учебных заведений.

Особенно отрадно, что материал курса изложен на основе передового учения, развитого корифеями биологической науки — Тимирязевым, Мичуриным, Вильямсом и их последователями.

Курс микробиологии читается в настоящее время на разных факультетах с.-х. вузов и проходится в разных объемах. Это существенно затрудняет задачу автора, но Федоров ее успешно решил, напечатав часть курса, имеющую более частное значение, петитом.

Надо отметить, что книга написана хорошим языком и читается легко.

Переходя к разбору содержания руководства, мы прежде всего остановимся на его плане. Книга содержит следующие большие разделы, распадающиеся на 20 глав.

1) Общая морфология и систематика бактерий (главы 1—2).

2) Общая физиология микроорганизмов (процессы питания, учение о ферментах, дыхание и влияние факторов внешней среды на микроорганизмы (главы 3—8).

3) Частная физиология микроорганизмов (процессы брожения, окисления, превращение органических и минеральных форм азота, серы, фосфора (главы 9—16).

4) Превращение органического комплекса в почве (микрофлора почвы, минерализация органических веществ в почве, хранение навоза и т. д. (главы 17—20).

Материал, представляющий агрономический интерес, автором рассматривается параллельно с разбором основных теоретических вопросов и лишь некоторые частные разделы с.-х. микробиологии анализируются в отдельной (четвертой) главе. Подобное построение курса следует считать вполне правильным.

Положительная оценка, данная нами книге в целом, не исключает вместе с тем некоторых критических замечаний, которые мы считаем тем более уместными, что книга еще будет переиздаваться, так как ее настоящий тираж (25 000 экз.) быстро будет реализован.

Прежде всего мы должны отметить, что в 4-м издании курса «Микробиология» более подробно, чем ранее, разобраны факты, имеющие агрономическое значение. Однако и сейчас учебник скорее отвечает программе университетов, чем сельскохозяйственных высших учебных заведений. По нашему мнению, в общей части курса следовало бы более расширенно разобрать вопрос о бактериальных удобрениях. Агронома интересуют не только общие принципы их использования, но и некоторые детали обстановки, в которой данные удобрения оказываются наиболее эффективными. Это относится как к нитрагину, так и к азотогену. Пройдя курс микробиологии, студент должен ясно представлять, как следует возможно целесообразнее использовать бактериальные препараты. Эти знания, конечно, должны базироваться на биологии азотфиксирующих бактерий.

Очень скромное место отведено также вопросу о микоризе растений и практическому использованию грибов-микоризообразователей древесных пород. Между тем в связи с постановлением правительства и ЦК ВКП(б) о плане полезащитных лесо-

насаждений в степных и лесостепных районах Европейской части СССР данный вопрос приобретает исключительно большое значение.

Большее внимание следовало бы уделить и разделу об использовании антагонистических взаимоотношений у микроорганизмов в сельском хозяйстве.

В специальной части недостаточно основательно разобрана сущность почвообразовательного процесса, в том числе и вопрос о перегное. Это сказывается даже в заголовке четвертого раздела книги, носящего наименование: «Превращение органического комплекса почвы». Это сужает учение о почвенных биологических процессах до рассмотрения хотя и очень важного, но все же частного вопроса.

Между прочим непонятно, почему в только что отмеченный раздел отнесены главы: «Микробиологические процессы при хранении навоза» и «Микробиология воды и воздуха». Их надо было бы рассматривать изолированно.

В четвертом разделе книги следовало бы более обстоятельно проанализировать вопрос о влиянии окультуривания почвы на ее микрофлору, а также подробнее осветить роль микробиологического фактора в образовании почвенной структуры.

Мы могли бы рекомендовать расширить и некоторые общие разделы. Руководство, написанное Федоровым, имеет явно выраженную биохимическую направленность. Части же, касающиеся описания морфологических особенностей микроорганизмов и их систематики, явно сокращены. Последние разделы следовало бы расширить за счет некоторого сокращения сведений по биохимии микробной клетки.

К месту следует подчеркнуть, что столь существенный вопрос, как морфология и систематика ряда групп микроорганизмов, рассматривается Федоровым в главе «Систематика бактерий» (?). Подобная неточность будет неправильно ориентировать студента, изучающего классификацию микроорганизмов.

Конечно, больше следовало бы сказать о вирусах, фаге и особенно фильтрующихся формах бактерий. Из сведений, данных в книге, читатель не поймет, что представляют собой последние образования. Совершенно выпал вопрос о закономерностях размножения микроорганизмов на питательных средах.

Пожалуй, нужно было бы дать основные положения учения об иммунитете у животных и растений.

Внесение всех отмеченных коррективов нужно сделать без увеличения объема книги. Нельзя забывать о том, что учебники должны быть изложены по возможности сжато. Как и в каждой большой работе, в «Микробиологии» Федорова могут быть найдены некоторые частные упущения.

Прежде всего сделаем несколько общих указаний, касающихся формулировки принципиальных положений, точности терминологического характера, тщательности оформления работ и т. д. Здесь имеются места, требующие известной доработки. Например, на стр. 77, говоря о характере изменений микроорганизмов под влиянием условий внешней среды, автор работы пишет: «Наблюдаемые изменения могут быть как временными, адаптивными, так и устойчиво сохраняющимися в потомстве». Данная фраза содержит грубую ошибку. Положение о ненаследуемости приспособительных (адаптивных) признаков, как известно, выдвигалось морганистами и не отвечает фактическому положению дел. Сам Федоров на той же стр. 77 приводит примеры, говорящие за передачу по наследству приобретенных под влиянием среды признаков и, конечно, полностью разделяет воззрение мичуринской школы. Тем не менее в книгу вкралась неверная формулировка.

В учебнике следует применять точную терминологию. Между тем Федоров не выясняет понятия о виде, культуре и штамме у бактерии и сам пользуется этими терминами весьма вольно.

Не выдержана транскрипция латинских названий. Так, например, у Bact. Delbrückii (стр. 196) видовое наименование пишется с большой буквы, а у Bact. Freidenreichii (стр. 200) и Bact. Stutzeri (стр. 391) с малой, хотя и эти бактерии названы в честь ученых.

Мы уже отмечали, что не всегда содержание материала, изложенного в том или ином разделе, строго отвечает его наименованию. Число приведенных примеров может быть увеличено. Так в главе «Окисление безазотистых органических веществ с параллельным усвоением молекулярного азота», помимо азотобактера, рассматривается жизнедеятельность Clostridium Pasteurianum, который, как известно, является анаэробом и окислительных процессов не вызывает.

Имеется небрежность в оформлении таблиц. Некоторые из них снабжены надписями, другие же даны без заголовков и пояснительного текста. Поэтому иногда не совсем ясно, что обозначают приводимые в таблицах цифры (см. табл. 36, 38 и т. д.).

Много лучшего оставляют желать рисунки. Например, на рис. 12 нельзя увидать спор у бактерий, вопреки утверждению надписи. Жгуты у спирилл (рис. 50) изображены по очень плохой копии со старого учебника Златогорова, в то время как можно было бы дать прекрасные фотографии, сделанные в электронном микроскопе. Даны также устаревшие рисунки Gallionella (рис. 171) и т. д. В общем весьма многие рисунки следовало бы обновить и технически сделать лучше.

В краткой рецензии невозможно сколь-либо подробно критически разобрать содержание отдельных глав и почтому мы ограничиваемся лишь некоторыми, как нам кажется, наиболее существенными замечаниями.

Описывая методику новых приемов изучения клетки микроорганизмов, Федоров

кратко разобрал работу с флюорохромами и электронным микроскопом. Следовало бы, однако, отметить, что при использовании последнего аппарата микроскопирование проводится в вакууме, а окраска может быть заменена импрегнированием клетки различными веществами.

Имеются неточности при описании строения микробной клетки. Так из сведений, сообщаемых на стр. 57, видно, что клетка микробов весьма нередко накопляет от 35 до 50% жира (не отмечено, что расчет дан на сухое вещество). Несколькими же строками ниже указывается, что 50% жира обнаруживается в клетке как исключение.

Утверждая, что Пешкову удалось обнаружить у бактерий дифференцированное ядро (стр. 59), автор книги не отмечает, однако, что данный факт вполне обоснованно отрицается рядом исследователей (Имшенецкий и др.).

На стр. 63 как достоверные сообщены устаревшие и заведомо ошибочные сведения о наличии полового процесса у Chromatium Okenii.

Устойчивость спор бактерий к повышенной температуре Федоров объясняет малым содержанием в них воды. Вместе с тем имеются данные, заставляющие думать, что термостабильность зависит не столь от количества воды в клетке, как от ее наличия в свободном или связанном состояниях.

В книге следовало бы пользоваться какой-либо одной систематикой микробов. Этого автор книги не делает и подчас ставит читателя в трудное положение (см., например, стр. 87 и 88).

При описании влияния факторов внешней среды на микроорганизмы неверно сообщается, что при 30% влажности в продуктах прекращают размножаться бактерии, а при 15% грибы (стр. 168). Если бы, например, работники «Заготзерно» стали руководствоваться указанными нормами, то они испортили бы хранящийся зерновой материал. Конечно, общих норм давать нельзя. Для каждого продукта имеется своя критическая влажность, определяемая рядом факторов.

Федоров указывает, что поваренная соль используется в качестве консервирующего вещества в силу того, что она обладает высокой осмотической активностью (стр. 169). Конечно, это имеет значение, но практика руководится и другими соображениями. В частности, принимаются во внимание органолептические свойства того или иного соединения; используемого для консервирования продукта.

В разделе о токсигенных бактериях пропущены протейные отравления, играющие большую роль в пищевых отравлениях (стр. 174).

Нельзя согласиться с трактовкой автора типичного и нетипичного молочнокислого брожения. На стр. 196 сообщается, что при типичном молочнокислом брожении происходит гладкое расщепление сахара на две молекулы молочной кислоты. Это не совсем точно, так как наряду с молочной кислотой некоторые типичные молочнокислые бактерии вырабатывают из сахара большие или меньшие количества побочных продуктов, так, например, часто встречающийся в силосуемых кормах вид Bact. plantarum образует из углеводов заметные количества уксусной кислоты. При развитии же на пентозах этот же вид накопляет в среде почти столько же уксусной кислоты, сколько и молочной. Эти моменты в учебнике не вскрыты, и читателю остается неясным, почему, например, при вполне нормальном брожении силоса, в корме образуются значительные количества уксусной кислоты. Ссылка на нетипичное молочнокислое брожение в данном случае не совсем точна.

В группу возбудителей нетипичного молочнокислого брожения нельзя объединять столь далеко друг от друга стоящих бактерий, как кишечную палочку и типичных молочнокислых бактерий (Bact. pentoaceticum), что сделано Федоровым.

В некоторых местах имеются непонятные для читателя расчеты. Так сообщается (стр. 188), что в виде CO_2 воздух содержит 600 биллионов тонн углерода. Далее, указывается, что при ежегодном потреблении растительностью 60 биллионов тонн углерода без пополнения вся атмосфера лишилась бы CO_2 через 37 лет (?).

На стр. 271 автор высказывает сомнение в способности некоторых сапрофитных бактерий образовывать небольшие количества нитритов. После последних работ Нечаевой и Калиненко в этом вряд ли можно сомневаться.

В разделе об использовании нитрагина не мешало бы отметить, что вопрос о целесообразности использования данного препарата на освоенных территориях (в качестве «дополнительного» заражения) по поручению НКЗ СССР в основном был разрешен микробиологической лабораторией Института удобрений (ВИУАЛ, 1932—1937 гг.).

Сделанные нами замечания ни в коей мере не умаляют общего хорошего впечатления от изданного учебника.

Е. Н. Мишустин

БИБЛИОГРАФИЯ

I. Общая микробиология

Бирюзова В. И. О ядре у бактерий (Обзор работ по электронной микроскопии). Природа, № 9, 1949, стр. 29—37, с библиографией (22 назв.).

Володин А. П. и Пшеничников В. А. Микрофлора Кунгурской ледяной пещеры. Труды Молотовского гос. стоматологич. ин-та, вып. 8, 1949, стр. 393—402, с библиографией (11 назв.).

Геллер И. А. Измерение окислительно-восстановительного потенциала в микробиологических средах. Мікробіологіч. журнал, т. XI, вып. 2, 1949, стр. 79—91, с библиографией (20 назв.).

Гирфанова Х. Н. Об изменении бактерицидных свойств натурального белка и лизоцима куриного яйца в ходе инкубации. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXVIII, № 6, 1949, стр. 1105—1108.

Гирфанова Х. Н. Протистоцидные свойства белка куриного яйца и его лизоцима. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXVIII, № 5, 1949, стр. 941—943.

Иерусалимский Н. Д. Азотное и витаминное питание микробов. М.—Л., Изд-во Академии Наук СССР, 1949, 168 стр. с илл. Тираж 5000 экз. Цена 7 р. (Серия «Итоги и проблемы соврем. науки»).

Имшенецкий А. А. и Кузюрина Л. А. Питание микробов клетками других микроорганизмов. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXVII, № 3, 1949, стр. 555—556.

Количественные закономерности роста и размножения микробов. Сообщ. 1. В. М. Жданов. Индивидуальный рост микробов. Экспериментально-теоретическое исследование. Труды Украинского ин-та эпидемиологии и микробиологии им. Мечникова, т. XVI, вып. 2, 1949, стр. 3—19.

Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. М.—Л., Изд. Академии Наук СССР. 1949. 832 стр. с илл. и 3 отд. л. илл. Тираж 4000 экз. Цена в перепл. 65 р. (Ин-т микробиологии Академии Наук СССР). Библиография: стр. 749—780.

Леонтьев И. Ф. Грамицидин С и его активная группа. Природа, 1949, № 8, стр. 56—57, с библиографией (8 назв.).

Литвинов М. А. Исследование антибактериальных свойств у гименомицетов. Природа, 1949, № 9, стр. 60—63, с библиографией (11 назв.).

Минулина Д. и Казаков А. Приготовление питательных сред с применением шляма как фермента. Мясная индустрия, 1949, № 4, стр. 88—89.

Мишустин Е. Н. Памяти академика Бориса Лаврентьевича Исаченко (1871—1948). Ботанич. журнал, 1949, № 5, стр. 547—551, с портр.

Программа курса «Общая микробиология». Для всех технологических специальностей вузов пищевой промышленности. (Утвержд. Глав. управл. вузов пищевой промышленности 1/VII 1949 г.) (Состав. проф. Е. Н. Машустин, проф. Д. Э. Беленький, проф. В. С. Загорянский и проф. М. В. Федоров). М., Изд-во «Совет. наука», 1949, 8 стр. Тираж 2000 экз. Цена 25 к.

Савич В. П. Памяти акад. Б. Л. Исаченко. Природа, 1949, № 11, стр. 82—85.

Соболь С. Л. История микроскопа и микроскопических исследований в России в XVIII веке. М.—Л., Изд-во Академии Наук СССР, 1949, 607 стр. с илл. и 5 отд. л. илл. Тираж 5000 экз. Цена 30 р.

Тер-Карапетян М. А., Авакян Ш. А. и Арутюнян Г. С. Влияние условий среды на почкование Torulopsis armeniaca. Доклады Академии наук Армян. ССР, т. X, № 5, 1949, стр. 223—228.

Усачев П. И. Борис Лаврентьевич Исаченко (Некролог). Труды Всесоюз. гидробиологич. об-ва, т. I, 1949, стр. 11—26. Библиография: список работ акад. Б. Л. Исаченко (стр. 18—26).

Федоров М. В. Микробиология. 4-е переработ. и дополн. изд. М., Сельхозгиз, 1949, 424 стр. с илл. Тираж 25 000 экз. Цена в перепл. 11 р. 10 к. (Учебники и учеб. пособия для высших с.-х. учеб. заведений).

Фирсанова А. Н. и Кашкина Е. Г. Влияние антибиотиков на дрожжеподобные микроорганизмы. Сборник научн. трудов Казанского ин-та эпидемиологии и микробиологии, вып. 1, 1949, стр. 127—134.

II. Сельскохозяйственная микробиология

Абдуллаева С. Г. Черная плесень лука и меры борьбы с ней. Сад и огород, 1949, № 10, стр. 63—65.

Александров В. Г. Роль силикатных бактерий в мобилизации калия в почве и повышение урожая яровой пшеницы и кукурузы. Доклады Всесоюз. академии с.-х. наук им. Ленина, 1949, вып. 12, стр. 12—19.

Арсеньева М. В. К вопросу о биологии и вредоносности возбудителя фомоза крестоцветных. Записки ленинградского с.-х. института, вып. 5, 1948 г., стр. 117—127.

Ашкрумов Г. Г. Болезни гречихи. Селекция и семеноводство, 1949, № 12, стр. 69.

Бабаян А. А. Влияние температуры на рост возбудителей вилта хлопчатника в чистой культуре. Сборник трудов по защите растений (Армян. научно-исслед. ин-т технич. культур), № 2, 1949, стр. 55—58.

Бабаян А. А. Мучнистая роса на картофеле. Сборник трудов по защите растений (Армян. научно-исслед. ин-т технич. культур), № 2, 1949, стр. 93—101.

Бабаян А. А. Обнаружение вирусного скручивания листьев хлопчатника и столбура табака в Армении. Сборник трудов по защите растений. (Армян. научно-исслед. ин-т технич. культур), № 2, 1949, стр. 112—118, с библиографией (12 назв.).

Бабаян А. А., Ованесян О. П. и Ходжаян Е. А. Передача вертициллезного вилта хлопчатника семенами. Сборник трудов по защите растений (Армян. научно-исследов. ин-т технич. культур), № 2, 1949, стр. 42—54, с библиографией (11 назв).

Бабаян А. А., Ованесян О. П. и Ходжаян Е. А. Порождаемость картофеля вертициллиумом в условиях хлопковой зоны Армении. Сборник трудов по защите растений (Армян. научно-исслед. ин-т технич. культур), № 2, 1949, стр. 26—41.

Балев П. М. К вопросу о роли зеленых водорослей и нитрифицирующих бактерий в процессах накопления органического вещества в почве. Доклады Всесоюз. академии с.-х наук им. Ленина, 1949, вып. 8, стр. 29—32.

Бельтюкова К. Г. Бактериальные болезни, поражающие зерно-бобовые культуры в условиях УССР. Мікробіологіч. журнал, т. XI, вып. 2, 1949, стр. 3—21.

Бурыхина Е. К. Опасное заболевание свеклы («туберкулез»). Сад и огород, 1949, № 10, стр. 68.

Василькова А. К. Влияние условий хранения на поражение семенников капусты сосудистым бактериозом. Сад и огород, 1949, № 8, стр. 54—57.

Винокуров Г. М. Обеспложивание саранчевых при помощи микробов.— Труды Алтайской краевой станции защиты растений, 1949, № 1, стр. 35—51.

Гиляров М. С. Почвенная фауна орехово-плодовых лесов и ее роль в почвообразовательных процессах. Труды Юбилейной сессии, посвященной столетию со дня рождения Докучаева. М.— Л., 1949, стр. 257—262, с библиографией (стр. 262).

Дикасова Е. Т. Опыт микроанализа промышленной грены тутового шелкопряда на присутствие в ней вируса желтухи. Доклады Академии наук Уз. ССР, 1949, № 7, стр. 29—34.

Доброзракова Т. Л. Альтернария (Alternaria reticina M. D. et E.) как причина черной гнили моркови. Записки Ленинградского с.-х. ин-та, вып. 5, 1948, стр. 105—115.

Доброзракова Т. Л. Руководство к практическим занятиям по фитопатологии. М.— Л., Гос. изд-во с.-х. литературы, 1949, 312 стр. с илл. Тираж 10 000 экз. Цена в перепл. 6 р. 50 к. (Учебники и учеб. пособия для с.-х. вузов).

Доросинский Л. М. Бактериальные удобрения. М., Гос. изд-во с.-х. лит-ры, 1949, 38 стр. с илл. Тираж 25 000 экз. Цена 60 к. (Всесоюз. ин-т с.-х. микробиологии).

Енкен В. Б. Поражаемость фасоли бактериозами. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции (Всесоюз. ин-т растениеводства), т. XXVIII, вып. 2, 1949, стр. 90—118, с библиографией (9 назв.).

Жуковская П. Н. Состав ризосферных микроорганизмов культурных растений Труды Всесоюз. научно-исслед. ин-та удобрений, агротехники и агропочвоведения им. Гедройца, вып. 29, 1949, стр. 51—66, с библиографией (20 назв.).

Земит В. Э. Об иммунитете сортов льна-долгунца к ржавчине. Селекция и семеноводство, 1949, № 9, стр. 54—59.

Калниньш А. Влияние бактериофага на рост и развитие клевера. Известия Академии наук Латв. ССР, 1949, № 8, стр. 103—115, с библиографией (9 назв.).

Кожура С. И. Бактериальные удобрения. Владимир. Изд. Владимирского завода бактериальных удобрений Мин-ва сельского хозяйства СССР, 1949, 40 стр. с илл. Тираж 5000 экз. Цена 3 р.

Кочкин С. А. Желтая ржавчина озимой пшеницы в Иссык-кульской котловине.— Селекция и семеноводство, 1949, № 10, стр. 57—59.

Лившиц И. З. и Пупышева Л. И. К биологии возбудителя рака инжира Phomopsis cinerescens (Sacc.) Trav. Труды Гос. Никитского ботанич. сада им. Молотова, т. XXIV, вып. 4, 1949, стр. 67—76.

Мазилкин И. А. Биологический метод борьбы с корневой гнилью табачной рассады. Труды Гос. Никитского ботанич. сада им. Молотова, т. XXIV, вып. 4, 1949, стр. 77—88, с библиографией (стр. 87—88).

Немлиенко Ф. Е. Изучение бели и бактериоза початков кукурузы. В сборнике:

Основные результаты селекционно-опытной работы Синельниковской селекционно-опытной станции. Днепропетровск, 1949, стр. 161—166.

Новогрудский Д. М. К характеристике микрофлоры светлокаштановых почв Казахского мелкосопочника. Вестник Академии наук Казах. ССР, 1949, № 6, стр. 64—68.

Образцова А. А. С роли азотобактера в фосфорном питании растений. Труды Ин-та физиологии растений им. Тимирязева, т. VI, вып. 2, 1949, стр. 199—205.

Поляков И. М. Предварительная оценка химической иммунизации как методы борьбы с бурой и желтой ржавчиной пшеницы в полевых условиях. Труды Всесоюз. ин-та защиты растений, вып. 2, 1949, стр. 171—181, с библиографией (9 назв.).

Применение бактериальных препаратов в земледелии. (Состав. Е. Ф. Березова, Г. В. Лопатина, П. К. Ланповщиков и др.). М., Гос. изд-во с.-х. лит-ры, 1949, 136 стр. с илл. Тираж 15 000 экз. Цена 2 р. 30 к. (Всесоюз. ин-т с.-х. микробиологии.

Программа по микробиологии. (Для агрономических факультетов с.-х. вузов). (Утвержд. Главн. управл. с.-х. вузов в мае 1949 г. М., Изд-во Мин-ва высшего образования СССР, 1949, 8 стр. Тираж 10 000 экз.

Прохоров М. И. Бактериологический метод борьбы с мышами. Пчеловодство, 1949, № 8, стр. 54—55.

Русакова А. А. Бурая ржавчина на Кахетинской ветвистой пшенице. Агробиология, 1949, № 3, стр. 180—182.

Соколов Д. В. Корневая гниль и некоторые другие болезни шелковицы в Закавказье. Исследования по лесному хозяйству. Л., 1948, стр. 267—279.

Сухов К. С. и Вовк А. М. Столбур пасленовых. М.—Л., Изд. Академии Наук СССР, 1949, 104 стр. с илл. и 5 л. илл. Тираж 10 000 экз. Цена 5 р. 50 к.

Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. М.—Л., Изд-во Академии Наук СССР, 1949, 252 стр. Тираж 5000 экз. Цена 15 р. 50 к., с библиографией (стр. 223—249).

Тверской Д. Л. О возбудителе корнееда сахарной свеклы Aphanomyces cochlioides Drechs. Доклады Всесоюз. академии с.-х. наук им. Ленина, 1949, вып. 8, стр. 9—18.

Федоров М. В. Влияние восстановителей на фиксацию азота атмосферы азотобактером. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. XVII, № 4, 1949, стр. 741—744.

Федоров М. В. Двухкомпонентное строение катализатора фиксации азота у азотобактера и физиологический ход процесса фиксации молекулярного азота. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. XVII, № 3, 1949, стр. 557—559.

Харьков Д. В. О заражении бобовых клубеньковыми бактериями. «Советская агрономия», 1949, № 11, стр. 88—90.

Шулындин А. Ф. О заражении корней бобовых клубеньковыми бактериями мышиного горошка. Агробиология, 1949, № 4, стр. 119.

III. Техническая микробиология

Анчабадзе Т. Т. Материалы к изучению бумагоразрушающих грибов. Вестник Гос. музея Грузии им. Джанашиа, т. XIV-А, 1949, стр. 201—216, с библиографией (10 назв.).

Квасников Е. И. и Арашкина П. П. Новое в изучении болезней вина. Виноделие и виноградарство. СССР, 1949, № 10, стр. 26—29.

Литвинов Л. С. и Кобрынь Е. М. Наблюдения над влиянием адсорбентов на энергию брожений. Труды Ин-та физиологии растений им. Тимирязева, т. VI, вып. 2, 1949, стр. 143—149.

Макринов И. О применении аэробного способа брожения для переработки растительного сырья. Ботанич. журнал, 1949, № 4, стр. 410—418, с библиографией (стр. 418).

Программа курса «Частная микробиология». Для специальности «Технология винодельческого производства». (Состав. проф. д-р Д. Э. Беленький). Утвержд. Глав. управл. вузов пищевой промышленности 1/VII 1949 г. М. Изд-во «Совет. наука», 1949, 4 стр. Тираж 2000 экз. Цена 20 к.

IV. Пищевая микробиология

Программа курса «Частная микробиология». Для специальности «Ихтиология и рыбоводство». (Состав. проф. д-р М. В. Федоров). Утвержд. Главн. управл. вузов пищевой промышленности I/VII 1949 г. М., Изд-во «Совет. наука», 1949, 3 стр. Тираж 20 000 экз. Цена 15 р.

Программа курса «Частная микробиология». Для специальности «Технология мукомольно-крупяного производства и элеваторно-складское хозяйство». (Состав. проф. д-р Д. Э. Беленький). Утвержд. Глав. управл. вузов пищевой промышленности 1/VII 1949 г. М., Изд-во «Совет. наука», 1949, 4 стр. Тираж 2000 экз. Цена 20 к.

Программа курса «Частная микробиология». Для специальности «Технология мяса и мясопродуктов». (Состав. проф. д-р В. С. Загорянский). Утвержд. Глав. управл. вузов пищевой промышленности 1/VII 1949 г. М., Изд-во «Совет. наука», 1949, 4 стр. Тираж 2000 экз. Цена 20 к.

Программа курса «Частная микробиология». Для специальности «Технология плодов и овощей. (Состав. проф. д-р В. Загорянский). Утвержд. Глав. управл. вузов пищевой промышленности 14/VII 1949 г. М., Изд-во «Совет. наука», 1949, 2 стр. Тираж 500 экз. Цена 15 к.

Программа курса «Частная микробиология». Для специальности «Технология рыбы и рыбных продуктов». (Состав проф. д-р М. В. Федоров). Утвержд. Глав. управл. вузов пищевой промышленности 1/VII 1949 г. М., Изд-во «Совет. наука», 1949, 4 стр. Тираж 2000 экз. Цена 20 к.

Программа курса «Частная микробиология». Для специальности «Технология сахаристых веществ и брожения». (Состав. проф. д-р Д. Э. Беленький). Утвержд. Глав. управл. вузов пищевой промышленности 1/VII 1949 г. М., Изд-во «Совет. наука», 1949, 4 стр. Тираж 2000 экз. Цена 20 к.

Программа курса «Частная микробиология». Для специальности «Технология хлебопекарного, кондитерского и макаронного производства». (Состав. проф. д-р Д. Э. Беленький). Утвержд. Глав. управл. вузов пищевой промышленности 1/VII 1949 г. М., Изд-во «Совет. наука», 1949, 4 стр. Тираж 2000 экз. Цена 20 к.

Программа по микробиологии пищевых продуктов. (Для товароведных факультетов экономических высших учеб. заведений). (Состав. проф. Ф. М. Чистяков). Утвержд. 25/VII 1949 г. М., Изд-во Всесоюз. заоч. ин-та сов. торговли, 1949, 4 стр. Тираж 2000 экз. (Мин-во высшего образования СССР).

Сыромятникова М. Г. Бактериологические исследования в рыбной промышленности. Владивосток. Изд. Тихоокеанского научно-исслед. ин-та рыбного хозяйства и океанографии, 1949, 111 стр. с илл. Тираж 1500 экз. Цена не указ., с библиографией (стр. 106—107; 23 назв).

V. Микробиология молока и молочных продуктов

Богданов В. М. Микробиология молока и молочных продуктов (Учебник для техникумов). М., Пищепромиздат, 1949, 152 стр. с илл. Тираж 10 000 экз. Цена в перепл. 5 р. 75 к

Верещагина В. И. Группа кишечной палочки в сибирском сливочном масле. Сборник работ по вопросам гигиены питания. Новосибирск., 1949, стр. 44—67.

Непомнящая М. Л., Либерман Л. А. и Медвинская Л. Ю. Вредная роль бактериофага в молочной промышленности. Киев, Изд-во Академии наук Укр. ССР, 1949, 64 стр. Тираж 20 000 экз., на украинск. яз. Цена 1 р. 75 к. (Ин-т микробиологии им. акад. Д. К. Заболотного), с библиографией (стр. 62—63).

Программа курса «Частная микробиология». Для специальности «Технология молока и молочных продуктов». (Состав. проф. д-р В. С. Загорянский). Утвержд. Глав. управл. вузов пищевой промышленности 1/VII 1949 г. М., Изд-во «Совет. наука», 1949, 4 стр. Тираж 2000 экз. Цена 20 к.

Рунов Е. Способы воздействия на микрофлору молока. Молочная промышленность, 1949, № 8, стр. 42—44.

VI. Микробиология воды

Крисс А. Е. Б. Л. Исаченко — основоположник морской микробиологии. «Природа», 1949, № 11, стр. 86—89.

Кузнецов С. И. Основные итоги и очередные задачи микробиологических исследований иловых озерных отложений. Труды Всесоюз. гидробиологич. об-ва, т. I, 1949, стр. 73—90, с библиографией (стр. 89—90).

Родина А. Г. Бактерии как пища водных животных. Природа, 1949, № 10, стр. 23—26.

VII. Научно-популярная литература

Левитский Б. Г. Мир невидимых существ и их значение в народном хозяйстве. Киев, Изд-во Академии наук Укр. ССР, 1949, 44 стр. Тираж 15 000 экз., на украинск. яз. Цена 60 к. (Об-во по распространению политич. и научн. знаний Укр. ССР).

Лункевич В. В. Невидимые враги и друзья людей. Перевод с русск. 11-го издания. Каунас. Гос. изд-во энциклопедий, словарей и научн. лит-ры, 1949, 91 стр. с илл. Тираж 6100 экз., на литовск. яз. Цена 2 р. 5 к.

То же: Тбилиси, Изд-во «Техника да шрома», 1949, 108 стр. с илл. Тираж 3000 экз., на грузинск. яз. Цена 5 р.

Могилевский Б. Л. На заре микробиологии (О работах И. И. Мечникова). В сборн. «Наука и жизнь», М., 1949, стр. 227—242.

Писаржевский О. По следам невидимых врагов. (Очерк из истории вирусологии). Знание — сила, 1949, № 7, стр. 13—17; № 8, стр. 1—5.

Рыжков В. Л. Фильтрующиеся вирусы. Наука и жизнь, 1949, № 11, стр. 10—14.

Травин Г. Микробы плодородия. (О работах лауреата сталинской премии М. В. Федорова). Знание — сила, 1949, № 10, стр. 34—35.

ХРОНИКА

ТРАУРНОЕ ЗАСЕДАНИЕ, ПОСВЯЩЕННОЕ ПАМЯТИ АКАДЕМИКА Б. Л. ИСАЧЕНКО

17 ноября 1949 г. состоялось траурное заседание Института микробиологии АН СССР и Всесоюзного гидробиологического общества, посвященное годовщине со дня смерти директора Института микробиологии и председателя Гидробиологического общества заслуженного деятеля науки академика Бориса Лаврентьевича Исаченко.

Заседание открылось вступительным словом члена-корреспондента АН СССР А. А. Имшенецкого.

В своем выступлении А. А. Имшенецкий уделил особенное внимание последним годам деятельности Б. Л. Исаченко, связанным главным образом с большой и ответственной работой по руководству Институтом микробиологии АН СССР.

До преклонного возраста, до последних дней своей жизни Борис Лаврентьевич сохранил необыкновенную работоспособность. Ему было присуще большое чувство долга и ответственности перед Родиной за порученную работу, юношеский энтузиазм и пыл в науке. Он был безукоризненно выдержан и обаятелен в обращении с людьми.

В своем докладе «Жизнь и деятельность Б. Л. Исаченко», проф. Е. Н. Мишустин осветил многообразную научную деятельность Бориса Лаврентьевича, а также его научно-организационную роль в крупных научных учреждениях Союза.

Научная деятельность Бориса Лаврентьевича началась еще в 1894 г., в бытность его студентом С.-Петербургского университета, когда, по поручению Петербургского общества естествоиспытателей и врачей, он был командирован в Херсонскую и Бессарабскую губернии для выяснения распространения в них паразитных грибов. На четвертом курсе он выполнил работу по строению и гистологии одного шляпного гриба. За эти две работы Совет университета присудил ему премию «В память 1-го съезда естествоиспытателей и врачей». По окончании курса университета Борис Лаврентьевич был оставлен при нем для подготовки к профессорскому званию (1895).

Всего Борис Лаврентьевич проработал в университете 34 года, последовательно исполняя обязанности ассистента (у проф. Гоби), приват-доцента и с 1918 г.— профессора по кафедре микробиологии.

Основные научные исследования проводились Борисом Лаврентьевичем в тот период в Главном ботаническом саду (ныне БИН АН СССР). Начал он свою работу там с исследований хлорофилла.

Заведуя длительное время (с 1902 г.) находящейся при Ботаническом саде станцией семеноведения (сначала — Департамента земледелия, а затем Народного комиссариата земледелия) и отделом семеноведения Главного Ботанического сада, Борис Лаврентьевич Исаченко и его ученики разработали методы анализа семян, определения количества головневых спор в семенах, анализа прорастания семян и многие другие вопросы. До 60 работ написано Борисом Лаврентьевичем по семеноведению.

Борис Лаврентьевич является автором ряда статей по физиологии растений, по истории ботаники, по описанию ботанических садов Европы и Америки и др.

После Великой Октябрьской социалистической революции (1917) Борис Лаврентьевич Исаченко был назначен директором Главного Ботанического сада. На этом посту Борис Лаврентьевич выполнил трудную и ответственную задачу в условиях разрухи после первой империалистической войны и начавшейся гражданской войны по сохранению Ботанического сада с его громадными оранжереями, гербарием, ботаническим парком, ценной библиотекой и т. д.

При поддержке коллектива Борису Лаврентьевичу удалось сохранить Сад в тяжелое для молодой Советской Республики время и в 1920 г. представить правительству проект полного восстановления Сада и дальнейшего его развития. Совнаркомом были отпущены Ботаническому саду соответствующие средства. После приведения научного хозяйства Сада в порядок была изменена и его научная структура. Борис Лаврентьевич стремился придать Саду ведущую роль в деле изучения растительных ресурсов страны. Для этой цели штаты сада были пополнены крупными специалистами, создан ряд новых отделов, укреплены старые и т. д.

В 1930 г. после смерти академика В. Л. Омелянского, по предложению академика И. П. Павлова и С. Н. Виноградского, Борис Лаврентьевич был избран заведующим отделом общей микробиологии Института экспериментальной медицины. Здесь Борис Лаврентьевич проводил исследования торфяных лечебных грязей, организовал работу по контролю и улучшению качества питьевой воды, и т. д.

В 1937 г. Борис Лаврентьевич был приглашен в Институт микробиологии АН СССР. Уже в 1938 г. был назначен его директором и руководил им до последних дней своей жизни.

Борис Лаврентьевич упрочил ведущую роль Института, и его работа была решительно направлена на обслуживание народнохозяйственных задач страны. Личные работы Бориса Лаврентьевича были связаны с запросами практики, как то: изучение коррозии бетона от действия бактерий, выяснение причин запахов и привкусов воды Москвы-реки и способов борьбы с этими явлениями, самонагревание зерна, торфа, микробиологические исследования нефти и т. д.

Проводя в течение всей своей жизни большую научную и научно-организационную работу, Борис Лаврентьевич всегда находил время и считал своим долгом заниматься научно-общественной деятельностью. Так, Борис Лаврентьевич был почетным членом Микробиологического общества в Ленинграде, действительным членом Московского общества испытателей природы, действительным членом Всесоюзного географического общества, первым председателем Всесоюзного гидробиологического общества, вице-президентом Международного общества по исследованию Арктики и т. д.

В 1929 г. Борис Лаврентьевич был избран членом-корреспондентом АН СССР. В 1945 г.— действительным членом АН УССР, а в 1946 — академиком АН СССР. Незадолго до смерти ему было присвоено звание почетного доктора Карловского университета в Праге.

Правительство СССР высоко оценило деятельность Бориса Лаврентьевича Исаченко. Еще в 1936 г. ему было присуждено звание заслуженного деятеля науки. Он был награжден орденом Ленина, орденом Трудового Красного Знамени и медалями.

С докладом «Об экспедиционной деятельности Б. Л. Исаченко» выступил проф. И. И. Усачев.

Исследования в области водной и геологической микробиологии, составившие крупный вклад в мировую науку, создали Борису Лаврентьевичу научное имя и широкую известность.

Первые исследования арктических морей начаты были Борисом Лаврентьевичем в 1906 г. Участвуя в Мурманской промысловой экспедиции, Борис Лаврентьевич проводил обширные микробиологические исследования Баренцова моря по Кольскому меридиану и у берегов Новой Земли. Результатом этих работ явился классический труд «Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана», опубликованный Борисом Лаврентьевичем в 1914 г. Академия Наук оценила этот труд как выдающийся и удостоила Бориса Лаврентьевича в 1918 г. Бэровской премии.

Исследования арктических морей развернулись в широком масштабе лишь после Октябрьской революции. Борис Лаврентьевич многократно (1927, 1930 и 1933) посещает Север, работая в правительственных экспедициях, руководит микробиологическими исследованиями на полярных станциях и т. д. Как участник широко известных экспедиций на судах «Таймыр», «Седов» и «Сибиряков» Борис Лаврентьевич за указанный выше срок проводит исследования Баренцова, Карского морей и моря Лаптевых.

Исследования Бориса Лаврентьевича по-новому осветили жизнь северных морей, опровергнув существовавшее ранее мнение об отсутствии в арктических морях процессов, связанных с деятельностью микроорганизмов. Исследования Бориса Лаврентьевича установили, что в водах и грунтах арктических морей присутствуют в значительных количествах разнообразные физиологические группы бактерий и что низкие температуры не останавливают микробиологических процессов, а только их замедляют. Им наглядно было показано влияние микроорганизмов на динамику биологических процессов моря. Отмеченная работа, а также и последующие работы Бориса Лаврентьевича и его учеников по изучению арктических областей закрепили ведущее место за Советским Союзом в области морской микробиологии и послужили основанием для создания этой новой отрасли знания.

Борис Лаврентьевич был пионером микробиологических исследований в Арктике. Его имя популярно среди полярников, его именем назван один из островов в Карском море.

Экспедиции Бориса Лаврентьевича в южные моря начинаются в 1911 г., когда он принял участие в работах по изучению Черного и Мраморного морей. В 1918 г. он исследовал Каспийское море, в 1922—23 гг., а также в 1924, 1925 и 1926 гг. принимал участие в Азовочерноморских экспедициях.

Материалы этих экспедиций позволили установить, что в морских водах совершается тот же круговорот веществ, который протекает в почве, и что деятельность микроорганизмов определяет ряд основных свойств водоема.

Микробиологические исследования озер и лиманов, проведенные Борисом Лаврентьевичем на юге Европейской части России, привели к выяснению роли микроорганизмов в образовании лечебных грязей. Монография Бориса Лаврентьевича «Микробиологические исследования над грязевыми озерами», опубликованная в 1927 г., явилась новым капитальным исследованием, показавшим значение микробов в биологических процессах.

Последующие изучения содовых, хлористых, сульфатных озер и минеральных источников составляли одну общую цепь исследований, в которых было показано участие микроорганизмов в биогенном образовании полезных ископаемых. Этими работами заложено основание экологической микробиологии водоемов, устанавливающих связь микробиологических процессов и условий среды, и показаны те многообразные пути, по которым идет деятельность микроорганизмов.

Доклад проф. З. Г. Разумовской, посвященный педагогической деятельности Бориса Лаврентьевича Исаченко, одновременно осветил историю возникновения и развития кафедры микробиологии Ленинградского государственного университета, работа которой была тесно связана с именем Бориса Лаврентьевича. Он первый возглавил вновь созданную университетскую кафедру микробиологии, учрежденную в России только в 1918 г. Длительное время до этого (с 1902 г.) он читал в С.-Петербургском университете новый и оригинальный курс учения о микроорганизмах.

Несмотря на то, что уже к концу XIX в. микробиология заняла почетное место среди других биологических наук, а труды русских ученых Л. С. Ценковского, И. И. Мечникова, Д. И. Ивановского, С. Н. Виноградского и других составили блестящие страницы истории этой науки, микробиология как самостоятельная дисциплина длительное время не включалась в курс высших учебных заведений.

Естественно, что у передовых русских ученых возникала мысль о необходимости исправления существующего положения. Так, например, В. В. Докучаев в 1895 г. подал Министерству народного просвещения записку «О полезности и своевременности учреждения при физико-математических факультетах университетов двух новых кафедр — почвоведения и учения о микроорганизмах».

Однако в Совете тогдашнего СПб. университета проект об учреждении кафедр почвоведения и микробиологии не нашел поддержки и был отклонен.

В 1892 г. студенты Петербургского университета, добиваясь открытия кафедры бактериологии, по собственному почину обратились к С. Н. Виноградскому, заведывавшему тогда отделом общей микробиологии Института экспериментальной медицины. Однако при отсутствии соответствующей лаборатории в университете из этих попыток ничего не получилось. В числе инициативной группы студентов, ратовавших за открытие кафедры, был и Борис Лаврентьевич.

После окончания университета, сдав в 1900 г. магистерские экзамены, Борис Лаврентьевич читает приват-доцентский курс микробиологии в Петербургском университете.

В то время для получения права чтения лекций в университете нужно было прочесть на заседании факультета две лекции: одну по своему выбору, другую — по назначению факультета.

Первая лекция Бориса Лаврентьевича была посвящена усвоению атмосферного азота микроорганизмами, вторая излагала учение о питании водорослей.

Только глубокая любовь и интерес к делу, а также свойственный Борису Лаврентьевичу энтузиазм позволили ему, преодолевая большие трудности в весьма убогой обстановке, вести курс по микробиологии в течение длительного ряда лет. Следует помнить, что в те времена такой курс не оплачивался, и вся подготовка материала к студенческим практическим занятиям, включая мытье посуды, стерилизацию, варку сред и др., лежала только на преподавателе.

Несмотря на это, и тогда десятки студентов выполняли дипломные работы по микробиологии под руководством Бориса Лаврентьевича.

Великая Октябрьская социалистическая революция коренным образом изменила существовавшее в университете положение с курсом микробиологии.

В ноябре 1918 г. постановлением правительства была учреждена в Петроградском университете первая университетская кафедра микробиологии в России, которую и возглавил Борис Лаврентьевич Исаченко.

Лекции Бориса Лаврентьевича по микробиологии пользовались всегда большой популярностью, были насыщены богатым фактическим материалом, любовью и увлечением предметом.

Огромная педагогическая работа Бориса Лаврентьевича была связана не только с кафедрой Ленинградского университета. В 1902 г. он начал читать курс микробиологии на Женских Стебутовских курсах, позднее преобразованных в сельскохозяйственный институт. Лекции эти читались Борис Лаврентьевичем в течение 30 лет.

Можно отметить, что еще ранее (в 1898 г.) Борис Лаврентьевич читал курс микробиологии по приглашению П. С. Лесгафта в созданном последним институте.

Под руководством Бориса Лаврентьевича Исаченко воспитывались квалифицированные кадры микробиологов и в других учреждениях: в Гидрологическом институте, Рыбном институте и т. д.

Таким образом, преподавательской деятельности Борис Лаврентьевич отдал свыше 40 лет.

За это время Борису Лаврентьевичу Исаченко удалось подготовить большую группу микробиологов, занявших впоследствии видное положение в науке.

С. В. Горюнова

В ЦЕНТРАЛЬНОМ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ САНИТАРНОМ ИНСТИТУТЕ ИМЕНИ ЭРИСМАНА

(Москва)

В Отделе санитарной бактериологии Центрального научно-исследовательского санитарного института им. Эрисмана составлена (Мац и Суражевская) качественная характеристика микрофлоры водохранилищ в зависимости от созревания водоема, степени загрязнения водоемов и от сезонных колебаний. Качественный учет микроорганизмов указывает на преобладание кокковых форм и пигментных видов в чистых водохранилищах. В более загрязненных водохранилищах преобладают палочковидные и спороносные формы, в основном бесцветные. Поверхностные слои водоемов беднее представлены различными видами бактерий, чем более глубокие. Наиболее устойчивый видовой характер микроорганизмов устанавливается в придонных отложениях, где начинают превалировать виды, обладающие значительными ферментативными свойствами. Кокковые формы и палочковидные бактерии являются основными представителями микрофлоры в зимнее и весеннее время. К концу лета и осенью преобладают спороносные виды с сильными ферментативными свойствами. В августе и сентябре среди видовых форм бактерий в водоемах появляются и вибрионы. По санитарно-биологическим показателям водохранилища канала им. Москвы ныне можно считать сформированными. Бактериальный планктон принимает активное участие в жизни водоемов, что сказывается в правильных сезонных колебаниях, качественной характеристике микрофлоры и разнообразии физиологических групп и видового состава микробов, ее составляющих. При гигиенической оценке водоемов имеет значение не только учет общего числа микробов, но и отдельных видовых форм.

Проведена работа (Мишустин и Васильева) о бактериальных показателях загрязнения и самоочищения почвы. Установлено, что загрязнение органическими соединениями (нечистоты) супесчаных почв весной вызывает более резкое увеличение числа сапрофитных микроорганизмов, чем суглинистых почв. В первых число микроорганизмов снижается почти до нормы к концу осени первого года наблюдений. Во вторых аналогичный эффект отмечается несколько позже. В начале второго весеннего периода имеет место незначительный подъем общего числа микроорганизмов по сравнению с контрольными (чистыми) почвами. Массовое загрязнение органическими веществами поверхностного слоя почвы незначительно сказывается на развитии микроорганизмов на глубине 60—70 см. После внесения нечистот резко возрастает число неспорообразующих бактерий, принимающих активное участие в первых фазах распада легкорастворимых органических соединений. Далее начинают развиваться спорообразующие микроорганизмы, за счет деятельности которых протекает разложение труднорастворимых органических соединений. Это позволяет использовать отношение общего числа микроорганизмов к числу спороносных как показателя степени загрязнения и самоочищения почвы. В загрязненных почвах титр бактерий группы Coli aerogenes и титр газообразования почти тождественны. При самоочищении почвы данные показатели снижаются параллельно. Это дает основание полагать, что бродильный титр в основном вызывается бактериями группы Coli aerogenes. В отдельных случаях к концу самоочищения почвы отмечается наличие так называемого ложного газообразования, при этом в пробе были обнаружены разнообразные спорообразующие микробы. Массивно загрязненные бактериями группы Coli aerogenes почвы самоочищаются в основном за весенний, летний и осенний периоды. В свежезагрязненных почвах обнаруживаются все формы бактерий, относящихся к группе Coli aerogenes. Однако бактерии Coli aerogenes в некоторых случаях выделяются в больших количествах. На поздних стадиях самоочищения почвы более богато представлены Bact. citrovorum и paracoli. Работа позволила выявить особенности питательных сред Эйкмана и Кесслер-Свенертона, используемых при определении бактерий группы Coli aerogenes во внешней среде. Было установлено, что среда Кесслер-Свенертона более элективна (что обусловливается бактерицидным действием генцианвиолета, входящего в ее состав), но иногда среда Эйкмана может быть несколько чувствительнее. Выращивание бактерий группы Coli aerogenes на средах Эйкмана и Кесслер-Свенертона при температуре 37 и 43° дало почти тождественные результаты; при температуре 37° выделение бактерий этой группы несколько затрудняется вследствие большого роста сапрофитной микрофлоры.

В отделе гигиены воды выполнена работа (Кибалчич) по изучению механизма задержки микробов песчаным фильтром станции очистки питьевой воды. Для суждения о степени освобождения воды от микроорганизмов в песке фильтра по глубине был использован прибор, при помощи которого забирались пробы из загрузки на расстоянии от поверхности песка в 5—20 и 60 см. Вода отбиралась из указанных слоев песка по трубкам прибора вакуум-насосом со скоростью, равной скорости фильтрации фильтра в целом (7 м/час или 10 м/г). Было доказано значительное преимущество фильтров с большим слоем песка (в смысле освобождения воды от микроорганизмов); с одной стороны, количество кишечной палочки, задержанной песком,

является функцией его массы, а, с другой,— количество кишечной палочки, вымываемой затем в фильтрат при поступлении на фильтр воды, не содержащей Bact. coli, является обратной функцией массы песка. Наблюдения показали, что механизм проникновения кишечной палочки в толщу песка в основном зависит от характера и количества сопутствующих взвешенных веществ и их разложения в песке. Адсорбция кишечной палочки песком детально не была изучена, однако ориентировочные опыты не позволяют придавать ей большого значения. Искусственное изменение pH воды в пределах, обычных для москворецкой воды (от 7,2 до 8,0), не влияет на задержку песком кишечной палочки. Условия водной среды при значении pH воды менее 6,75 являются неблагоприятными для сохранения жизнеспособности кишечной палочки. Опытами было установлено, что при кратковременной фильтрации воды с массивным бактериальным загрязнением происходит глубокое проникновение бактерий в толщу загрузки. Последующая фильтрация более чистой воды сопровождается длительным вымыванием в фильтрат задержавшихся в песке микробов. Для восстановления нормального процесса фильтрации требуется несколько циклов и промывок.

Д. Е. Розенберг

ИЗ ПИСЕМ В РЕДАКЦИЮ

В редакцию журнала «Микробиология» поступило письмо А. Саркисова (Всесоюзная Научно-исследовательская лаборатория по изучению ядовитых грибков). В этом письме автор указывает, что он с большим удовлетворением ознакомился с рецензией проф. М. Горленко на «Определитель микробов» Р. А. Циона, напечатанную в № 5, XVIII тома нашего журнала за 1949 г.

А. Саркисов считает, что «Определитель» Р. Циона настолько насыщен неверными и путанными сведениями, что практическое использование его невозможно. В своем письме А. Саркисов отмечает свое несогласие с мнением М. Горленко о том, что «Определитель» Р. Циона может в какой-либо мере удовлетворить представителей ветеринарных дисциплин, так как в «Определитель» не включено большинство грибов явно патогенных для сельскохозяйственных животных, а наряду с этим многие сомнительные по патогенности для животных виды или непатогенные приводятся в качестве патогенных.

А. Саркисов высказывает свое крайнее удивление в связи с появлением в двух журналах (Природа, № 4, 1949 г. и ЖМЭИ, № 4, 1949 г.) хвалебных рецензий проф. Метелкина на низкокачественный «Определитель» Р. Циона.

В своем письме А. Саркисов высказывает пожелание о целесообразности организации публичного обсуждения книги Р. Циона «Определитель микробов».

Редакция

СОДЕРЖАНИЕ

В. Г. Александров и Г. А. Зак. Бактерии, разрушающие алюмосиликаты (силикатные бактерии) 97

Ю. А. Имшенецкая. Влияние лишайников на развитие азотобактера . . . 105

Н. В. Мешков. Влияние корневых выделений гороха и кукурузы на развитие азотобактера и некоторых других почвенных микробов 109

Л. М. Уткин и Р. Е. Топштейн. Образование триметиленгликоля брожением глицерина 116

З. Г. Разумовская и О. А. Васильева. Влияние глюкозы на процесс окисления сорбита уксуснокислыми бактериями 121

М. И. Залесская. Образование рибофлавина в мицелии Asp. flavus при культивировании его на фильтрате зерновой барды 127

Н. И. Гамова-Каюкова. Подбор уксуснокислых бактерий для получения уксуса по скорому способу 137

В. М. Богданов. Новые методы приготовления питательных сред для анализа микрофлоры молока и молочных продуктов 147

Л. К. Осницкая. Пигментная система пурпурных бактерий (Обзор) 152

Д. М. Новогрудский. Материалы по истории почвенной микробиологии в России (Очерк первый). П. А. Костычев и создание почвенной микробиологии 174

Критика и библиография 181

Хроника 188

Т-00874 Подписано к печати 18 III 1950 г. Печ. л. 6+1 вклейка

Уч.-изд. л. 9,4 Тираж 4 800 экз. Заказ 59

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.